

Aus der Wilhelm Conrad Röntgen-Klinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Barth

Tierexperimentelle Untersuchungen
synzytostatischer Effekte bei kombinierter
Actinomycin C-Strahlen-Behandlung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Ludwig Kratz
aus Gießen

Gießen 1970

Aus der Wilhelm Conrad Röntgen-Klinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Barth

Tierexperimentelle Untersuchungen
synzytostatischer Effekte bei kombinierter
Actinomycin C-Strahlen-Behandlung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Ludwig Kratz
aus Gießen

Gießen 1970



Dekan: Prof. Dr. Habermann

Referent: Priv. Doz. Dr. Ringleb

Korreferent: Prof. Dr. Kracht

Inhaltsübersicht

	Seite
1. Einleitung und Zielsetzung	1
2. Die Actinomycine	4
2.1. Historisches zur Gruppe der Actinomycine	4
2.2. Das Wirkungsprinzip der Actinomycine	4
2.3. Bekannte Fakten über eine experimentelle Actinomycin - Strahlen - Behandlung	5
2.4. Actinomycine in der Klinik	6
3. Allgemeine Methodik der eigenen Untersuchungen	7
3.1. Actinomycin C	7
3.2. Bestrahlungsanlage	8
3.3. Tiermaterial und Tierhaltung	8
3.4. Statistische Methoden	9
4. Das Verhalten des Hodengewichtes weißer Mäuse nach Röntgenbestrahlung, Actinomycin C - Medi- kation und Kombinationsbehandlung	12
4.1. Spezielle Methodik	12
4.2. Ergebnisse	13
4.3. Diskussion	22
4.4. Zusammenfassung der Ergebnisse der Hoden- versuche	27
5. Die Beeinflussung des Heilungsverlaufes von Stanzwunden in Mäuseohren durch Actinomycin C - Medikation und Kombination dieser Maßnahme mit lokaler Ohrbestrahlung	28
5.1. Spezielle Methodik	28
5.2. Ergebnisse	29
5.3. Diskussion	35
5.4. Zusammenfassung der Ergebnisse der Ohr- stanzversuche	36
6. Das Verhalten des Schwanzlängenwachstums infantiler Mäuse nach zytostatischer und kombiniert radiologisch-zytostatischer Behandlung	37
6.1. Spezielle Methodik	37
6.2. Ergebnisse	38
6.3. Diskussion	43
6.4. Zusammenfassung der Ergebnisse der Versuche an infantilen Mäuseschwänzen	46

	Seite
7. Zusammenfassung der Versuchsergebnisse und vergleichende Diskussion	47
8. Zur Frage der Übertragbarkeit der Versuchs- ergebnisse in die onkologische Klinik	49
9. Zusammenfassung	51
10. Literaturübersicht	52

1. Einleitung und Zielsetzung

Neben der chirurgischen und radiologischen Behandlung und deren Kombination scheint die Therapie mit zytostatisch wirkenden Substanzen bei palliativer Zielsetzung eine Standardmethode in der Behandlung maligner Tumoren zu werden, in der Kombination mit den vorgenannten Maßnahmen auch bei kurativer Zielsetzung (ADELBERGER et al., 1966, BARTH et al., 1968 a + b, R. BAUER et al., 1965, HUBACHER, 1965). Zusammenfassende Übersichtsarbeiten zur radiologisch-zytostatischen Kombinationsbehandlung haben u.a. BANE et al. (1957), BARTH et al. (1966), HODNETT (1963), KLIGERMAN (1965), MAISIN (1963), PAPAC (1962), RAVENTOS (1966) und RINGLEB (1967) vorgelegt. Eine Behandlung maligner Tumoren mit ionisierenden Strahlen und Zytostatika kann in alternierender oder simultaner Weise durchgeführt werden. Dabei geht insbesondere die Methode der gleichzeitigen Anwendung beider Agentien von der Vorstellung aus, daß die zu beobachtenden biologischen Wirkungen beider einander zwar ähnlich sind, jedoch auf unterschiedlichen Primärwirkungen beruhen. Diese Vorstellung wird durch eine Vielzahl von Untersuchungen gestützt (Übersicht bei RINGLEB, 1967), so daß der von DUSTIN (1947) inaugurierte Begriff der Radiomimetika heute nur noch in Bezug auf die letzten Reaktionsprodukte, nicht aber in Bezug auf die Primär- und Intermediärvorgänge verstanden werden kann. Wesentliche Unterschiede zwischen beiden Agentien müssen schon dadurch bestehen, daß ionisierende Strahlen ihre Wirkung innerhalb von Sekundenbruchteilen entfalten und dabei unabhängig von chemischen und physikalischen Schranken der biologischen Materie sind, während radiomimetisch wirkende Substanzen erst innerhalb Stunden wirksam werden und es dann für einige Zeit bleiben, in ihrer Verteilung zudem beträchtlich von den biologischen Gegebenheiten abhängig sind. Wenn aber die Elementarvorgänge der Wirkungen ionisierender Strahlen von denen der Zytostatika verschieden sind, so könnten bei deren Kombination nicht nur additive,

sondern unter Umständen sogar deutlichere Effekte erwartet werden.

Grundsätzlich sind bei der Kombination zweier Agentien mehrere Möglichkeiten der gegenseitigen Wirkungsbeeinflussung denkbar: Der Kombinationseffekt kann kleiner sein als jeder der Einzeleffekte = Antagonismus; ist der Kombinationseffekt kleiner als die Summe der Einzeleffekte, aber größer als jeder der Einzeleffekte, spricht man von Subaddition, entspricht er der Summe der Einzeleffekte, handelt es sich um Addition; Potenzierung heißt, daß der Kombinationseffekt größer ist als die Summe der Einzeleffekte; als Sensibilisierung wäre die Kombination eines aktiven mit einem inaktiven Agens zu bezeichnen, wenn der Kombinationseffekt größer ist als der Einzeleffekt des aktiven Agens; Potenzierung und Sensibilisierung können unter dem Oberbegriff Synergismus zusammengefaßt werden (SARTORELLI, 1965). HOLLAND et al. (1967) verwenden Synergismus als Oberbegriff für alle in der Kombination kumulierenden Effekte. Nach UEHLEKE (1968) sollte Potenzierung wegen des merkantilen Mißbrauchs des Wortes durch superadditive Summation ersetzt werden. Um die nomenklatorischen Schwierigkeiten zu überwinden, werden wir im Folgenden je nach Verhältnis der Kombinationseffekte zu den Summen der Einzeleffekte in Anlehnung an SAUER (1968) von Subaddition, Addition und Superaddition sprechen und nach der Mehrzahl der Autoren Synergismus als Oberbegriff darüber benutzen.

Für die Strahlentherapie gilt die von BERGONIE und TRIBONDEAU (1906) aufgestellte Regel, daß die Strahlenempfindlichkeit von Zellen mit ihrer reproduktiven Aktivität ansteigt, mit ihrem Differenzierungsgrad dagegen abnimmt. Diese Regel ist auf zytostatisch wirkende Substanzen übertragbar, da deren kanzerotoxische Wirkung im wesentlichen auf der relativ stärkeren Schädigung der mit relativ rascherem Wachstum verbundenen vermehrten DNS-Synthese beruht, was von GROS und BOCK (1957) als relative Selektivität bezeichnet wurde. Zudem ist aus der onkologischen Klinik bekannt, daß ausdifferenzierte Malignome weniger gut auf therapeutische Versuche mit Zytostatika ansprechen. Weder ionisierende Strahlen noch Zytostatika besitzen demnach eine spezifisch auf die Krebszelle gerichtete Wirkung, was RINGLEB (1967) in die Formel faßte, daß "Synkarzinolyse (K.H. BAUER, 1963) mit diesen beiden Agentien nur im Rahmen einer Synzytostase möglich" sei. Wenn es zu einem therapeutischen Synergismus im Sinne KLIGERMANs (1965) kommen soll, müßten bei

einer Kombinationsbehandlung die unerwünschten synzytostatischen Nebeneffekte durch proportional stärkere Tumorerhemmeffekte überkompensiert werden, anders ausgedrückt, die Sensibilität des Tumors müßte relativ zu der der Tumorumgebung deutlicher ansteigen.

Als mögliche Kombinationsschäden wurden von BARTH et al. (1966) neben den bekanntlich vermehrt auftretenden hämatologischen Komplikationen die iatrogene Enterokolitis und Cystitis, die Verstärkung der Strahlenreaktion an Haut und sichtbaren Schleimhäuten, eine Zunahme der Strahlenschädigung der Nieren, des Zentralnervensystems, der Augenlinsen, der Gonaden sowie eine Verstärkung der Strahlenfibrose der Lungen durch zusätzliche zytostatische Behandlung genannt; weiterhin könnte die bei der kombinierten Behandlung kindlicher Malignome durch Bestrahlung auftretende lokale Wachstumshemmung zytostatisch noch verstärkt werden. Ein Teil dieser Befürchtungen konnte für Kombinationsbehandlungen mit Endoxan (RINGLEB, 1967, 1968; SCHNEIDER, 1967), Natulan, Proresid und 5-Fluoruracil (SAUER, 1968; STECKENMESSER, 1968) in unserer Arbeitsgruppe experimentell verifiziert werden. Als Versuchsmodelle wurden in diesen Arbeiten die Abnahme des Hodengewichtes von Mäusen, die Verzögerung des Heilungsablaufes von Stanzlöchern in Mäuseohren, die Abnahme des Schwanzlängenwachstums infantiler Mäuse und die Beeinflussung der Strahlenreaktion des mit einer nekrotisierenden Dosis teilbestrahlten Mäuseschwanzes gewählt. Diese Versuchsmodelle gaben über das Verhalten germinativer, jugendlicher und proliferativer Gewebe unter einer kombinierten Behandlung Aufschluß. Nachdem in diesen Experimenten Zytostatika aus der Gruppe der Alkylantien (Endoxan, Natulan), der Antimetaboliten (5-Fluoruracil) und der Antimitotika (Proresid) verwandt worden waren, sollten nun anhand der gleichen Versuchsmodelle die Kombinationseffekte mit Actinomycin C (Sana-mycin), einem zytostatisch wirkenden Antibiotikum, untersucht werden.

2. Die Actinomycine

2.1. Historisches zur Gruppe der Actinomycine

1940 isolierten WAKSMAN et al. (1940 a + b, 1941, 1942) Actinomycin A aus dem Nährboden von *Streptomyces antibioticus* - Kulturen. 1949 fanden BROCKMANN et al. Actinomycin C in der Nährlösung von *Streptomyces chrysomallus*-Kulturen. Die zytostatische Wirksamkeit dieser Substanzen ist seit den Veröffentlichungen von STOCK (1950 et al. (1953) und HACKMANN (1952, 1953, 1954) bekannt. Über erste therapeutische Erfahrungen mit Actinomycin C (Prüfbezeichnung HBF 386, später Sanamycin) berichten SCHULTE (1952) et al. (1953). BROCKMANN et al. (1952) konnten nachweisen, daß Actinomycin C ein Gemisch aus drei, chemisch einander sehr ähnlichen Substanzen C₁, C₂ und C₃ darstellt. Die Aufklärung der Struktur des Actinomycin C₃ gelang BROCKMANN (1954). Im gleichen Jahr isolierten MANAKER et al. (1954 - 55) das Actinomycin D aus *Streptomyces parvulus* - Kulturen, das sich als identisch mit dem Actinomycin C₁ erwies (BULLOCK et al., 1957). SCHMIDT-KASTNER (1956) zeigte, daß man die Biosynthese der Actinomycine durch Aminosäure- oder Peptidzusätze zum Nährmedium so steuern kann, daß neue Actinomycine entstehen, die ebenfalls zytostatische Aktivität besitzen (HACKMANN et al. 1957).

2.2. Das Wirkungsprinzip der Actinomycine

Der Wirkungsmechanismus der zytostatisch wirksamen Actinomycine beruht auf einer Komplexbildung mit der DNS (HABERS et al., 1962, KAWAMATA et al., 1960, KERSTEN, 1961, et al., 1960, KIRK, 1960, RAUEN et al., 1960). Da es in vitro zu einer Komplexbildung nur kommt, wenn die DNS Desoxyguanosin enthält (KERSTEN et al., 1962), darf dies als Bindungsort betrachtet werden. Als Bindungsart können Wasserstoffbrücken angenommen werden (HAMILTON et al., 1963). Die Tendenz zur Komplexbildung ist bei der nativen doppelsträngigen DNS, die nicht mit Histonen abgedeckt ist, wesentlich größer als bei der Einzelstrang-DNS (GOLDBERG et al., 1962) und den Nucleo-Histon-Komplexen (HABERS, 1964). Insbesondere die letzte Feststellung, daß Actinomycine hauptsächlich mit der aktiven DNS reagieren, kann als Erklärung für die unterschiedlichen Gewebekonzentrationen angesehen werden (HABERS, 1964), da je nach den funktionellen Aufgaben der Zellen mehr oder weniger aktive DNS vorhanden ist. Die Folge der Komplexbildung mit der DNS ist eine quantitative Störung der Matritzenfunktion der DNS, damit eine Blockierung der DNS-abhängigen RNS-Synthese (HURWITZ et al., 1962; REICH et al., 1962; SLOTNICK, 1958), und dadurch schließlich eine Hemmung der genabhängigen Proteinsynthese (KAWAMATA et al., 1960; SLOTNICK, 1958). Die DNS-Synthese wird vergleichsweise nur wenig beeinflusst (HABERS et al., 1962). Die beobachteten Mitosehemmungen (BAL et al., 1958; BIERLING, 1960; LOBB et al., 1958)

könnten einmal durch die quantitativ gestörte Proteinsynthese erklärt werden, andererseits liegen aber auch Beobachtungen über qualitative Veränderungen der DNS vor (KERSTEN et al., 1962). KEIR et al. (1963) berichten über eine vollständige Hemmung der DNS - Synthese, wenn das Molverhältnis von Actinomycin C₁ zu Guaninresten etwa 1 war.

2.3. Bekannte Fakten über eine experimentelle Actinomycin - Strahlen - Behandlung

Nach den Untersuchungen von HABERS (1964) mit C₁₄ - Actinomycin C₁ sind die Zellen, die sich während der Behandlung mit Actinomycin teilen, in der Lage, das komplexierte Actinomycin abzustreifen; dieses Abstreifen soll durch Röntgenbestrahlung verhindert werden. Experimentelle Fakten der Kombinationsbehandlung wurden vor allem mit dem Actinomycin D, einem dem Actinomycin C chemisch nahe stehenden anderen Vertreter der Gruppe der Actinomycine, erarbeitet. BASES (1959), CHAN et al. (1961) sowie COBB et al. (1958) beobachteten superadditive Effekte einer kombinierten Röntgen - Actinomycin D - Behandlung an Zellkulturen normaler und neoplastischer Zellen. SCHÖENINGER et al. (1962) konnten bei der Kombination von Ganzkörperbestrahlung mit Actinomycin D in Bezug auf die Mortalität von Ratten und Mäusen sowie an Fibroblasten - Kulturen nur subadditive Effekte feststellen. Auf den Einfluß des Zeitintervalls zwischen der Gabe von Actinomycin D und der Bestrahlung wiesen GRIEM et al. (1962, 1967) hin, die bei ihren Untersuchungen über die Bildung dysplastischer Haare superadditive Effekte sahen, wenn die Bestrahlung der Applikation des Zytostatikums nach 4 bzw. 16 Stunden folgte. RANNIGER et al. (1960) hatten ähnliche Beobachtungen auch in der vom Applikationsintervall abhängigen, unterschiedlichen therapeutischen Ansprechbarkeit eines auf Ratten übertragenen Walker - Tumors gemacht. RANNIGER et al. (1966) glauben diese Zeitabhängigkeit auch im Verhalten verschiedener menschlicher Malignome gesehen zu haben, bei denen das Ansprechen der Tumoren am größten war, wenn die Bestrahlung der Actinomycin D - Injektion im Abstand von 3 - 4 Stunden folgte. Eine Erklärung für dieses Verhalten sehen die Autoren

in der Beobachtung von HACKMANN (1952), daß 1 - 5 Stunden nach Gabe von 2 - 5 μ Actinomycin C die Zahl der Mitosen ansteigt, in den nächsten 17 Stunden auf normale Werte abfällt, sodaß bei der kombinierten Behandlung 4 Stunden nach der Actinomycin-Gabe eine größere Zahl von Zellen in der strahlenempfindlicheren praemitotischen Phase wären. Durch eine Behandlung mit Actinomycin D tritt eine Strahlenreaktion der Haut früher auf und ist stärker ausgeprägt. Diese klinischen Beobachtungen konnten auch im Tierexperiment nachgewiesen werden (D'ANGIO et al., 1960; LIEBNER, 1962; MADDOCK et al., 1960; PINKEL, 1959; SHAW et al., 1960; TAN et al., 1959). Es kann bei der alleinigen Gabe von Actinomycin D sogar zu einem Wiederaufflammen einer Strahlenreaktion an einer früher bestrahlten, inzwischen wieder normal aussehenden Stelle kommen (D'ANGIO et al., 1959).

2.4. Actinomycine in der Klinik

In der klinischen Anwendung sind die Actinomycine weitgehend von der moderneren und effektiveren Zytostatika verdrängt worden. Geblieben ist die alleinige oder häufiger mit Bestrahlung kombinierte Behandlung des Wilms-Tumor mit Actinomycin D (D'ANGIO et al., 1959; FARBER et al., 1956, 1960; PINKEL, 1959; SHAW et al., 1960; TAN et al., 1959). Nach HUTH (1966) soll auch Actinomycin C in höheren Dosen beim Wilms-Tumor wirksam sein. Mit der Kombination von Chlorambucil, Methotrexat und Actinomycin D wurden beim Chorionepitheliom gute Ergebnisse erzielt. Bei der Behandlung der Lymphogranulomatose mit Actinomycin C stehen sich positive (BÖRNSTEIN et al., 1954; MAGNUS et al., 1955; MARTIN, 1954; SCHMIDT et al., 1955; SCHULTE, 1952, 1954, et al., 1953) und negative Beobachtungen (BOLLAG et al., 1954; JAMMERS, 1960; RUNGE, 1962; SCHWENKENBECHER et al., 1956) gegenüber. Nach BRAUMSTEIMER (1966) reagieren aleukämische Formen der lymphatischen Leukämie manchmal günstig auf Actinomycin C. Wegen der starken Beeinflussung des lymphozytären Systems wird Actinomycin C auch im Rahmen einer immunsuppressiven Therapie angewandt (FINK, 1969; PICHLMAIER, 1969).

3. Allgemeine Methodik der eigenen Untersuchungen

3.1. Actinomycin C

Wir verwandten für unsere Versuche Sanamycin (Actinomycin C), das in Flaschen zu je 200 μ Substanz mit 5 ml Aqua redest. steril. als Lösungsmittel erhältlich ist. Die LD₅₀ des Actinomycin C beträgt nach den Angaben des Herstellerwerkes (Bayer, Leverkusen) 750 μ /kg Maus bei intraperitonealer Anwendung. Nach einem Vorschlag von DRUCKREY et al. (1963) verwandten wir zum Vergleich der zytostatischen Aktivität die "Therapeutische Einheit" (TE). 1 TE = 1 % der LD₅₀. Die Stammlösung (200 μ in 5 ml Aqua redest.), die vor jeder Applikation neu angesetzt wurde (YOUNG, 1961), wurde mit phys. NaCl so verdünnt, daß die für das einzelne Tier nach dessen Körpergewicht notwendige Menge Substanz in 0,2 ml Lösung (bei dem Versuch mit infantilen Mäusen in 0,05 ml) zur Verfügung stand. Als Hilfsmittel wurde dabei das in Abb. 1 dargestellte Diagramm benutzt. Die Lösung wurde aus Tuberkulinspritzen mit Intrakutannadeln intraperitoneal injiziert.

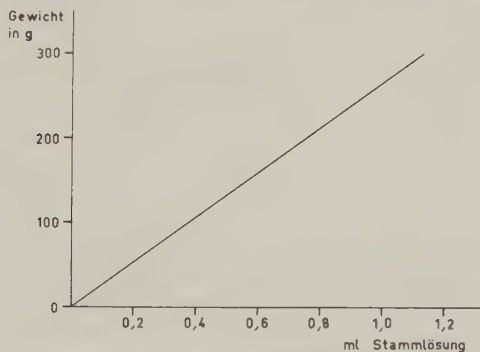


Abb. 1: Das Diagramm zeigt, wieviel ml Stammlösung zur Herstellung einer 20 TE - Lösung für das Gesamtgewicht einer Tiergruppe in einer Tuberkulinspritze aufgezogen werden müssen. Diese Menge wird mit phys. NaCl verdünnt auf Tierzahl $\times$ 0,2 (0,05) ml. Zur Herstellung einer 13,3 TE, 10 TE, 8 TE, 6,6 TE oder 3,3 TE - Lösung wird 1 ml der 20 TE - Lösung mit 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 oder 5,0 ml phys. NaCl verdünnt.

3.2. Bestrahlungsanlage

Die Bestrahlungen unter den in den Abschnitten 4., 5. und 6. angegebenen Bedingungen erfolgten mit einer Tierbestrahlungsapparatur, die nach den Angaben von BARTH et al. (1964) durch Anbringung einer zweiten Röhre mit hoher Dosisleistung und Umbau des Tubusaufsatzes aus einer Materialprüfanlage der Firma C.H.F. Müller, Hamburg, entstanden ist. Die Röhre MÖD 150 Be ist von 55 bis 150 kV so gefiltert, daß bei Halbwertschichten von 0,57 mm Al bis 0,7 mm Cu Dosisleistungen von 127 bis 67 R/' in 30 cm Fokusabstand erreicht werden. Bei entsprechender Filterung und gleichem Abstand leistet die Röhre FA 100/25 zwischen 25 bis 100 kV bei Halbwertschichten von 0,07 mm Al bis 2,3 mm Al 1280 bis 300 R/'. Eine Dosisintegrationsvorrichtung kann so in den Röhrenstromkreis geschaltet werden, daß nach Erreichung einer vorgewählten Dosis in einer Normalkammer (Faktor 1,0) oder Mikroschlauchkammer (Faktor 5,5) der Röhrenstrom automatisch abgeschaltet wird.

3.3. Tiermaterial und Tierhaltung *

Für die Versuche wurden NMRI - Albinomäuse, ein Gruppeninzuchtstamm der Tierzuchtanstalt IVANOVAS, Kisslegg/Allgäu, verwandt. Die Tiere, die bei ihrer Ankunft etwa 18 - 20 g wogen, wurden einige Tage bis zu dem in den speziellen Abschnitten angegebenen Gewicht gehalten. Ihre Kennzeichnung erfolgte mit Pikrinsäure oder Karbol-fuchsin an Kopf, Extremitäten, Rumpf und Schwanzwurzel. Die Tierhaltung erfolgte in Makrolon-Standard-Käfigen drei verschiedener Größen mit einer Einstreu aus Hobel-spänen. Die Ernährung mit "ssniff"-Trockenfutter M 15 (Futtermühle PLANGE, Soest/Westf.) und 0,005 %-igem Chloramin-Wasser ab libidum erfolgte von den Käfigdeckeln aus Zinkdraht. Die Käfige wurden zweimal wö- chentlich in 1 %-iger Trichlorol-Lösung gewaschen. Trink- flaschen aus Glas wurden täglich gewaschen und sterili- siert, Trinkflaschen aus Plastik täglich in 0,1 %-iger Trosilin-Lösung 10 min keimfrei gemacht, die Gummi- stopfen der Trinkflaschen täglich 30 min mit Hostapon- Zusatz gekocht und bis zum Gebrauch in 0,2 %-igem Chloramin-Wasser aufbewahrt. Pinzetten, Gummihandschuhe etc. wurden mit 0,5 %-iger Zephirol-Lösung behandelt. Die Hände wurden vor und nach jedem Hantieren mit den Mäusen mit Tego gewaschen. Die Lufttemperatur im Tier- stall wurde durch thermostatische Kontrolle auf 22 - 25 Grad Celcius gehalten.

* Unsere Versuchstiere fanden im Tierstall der Abteilung Experimentelle Radiologie der Wilhelm Conrad Röntgen- Klinik Aufnahme. Deren Leiter, Herr Prof. Dr. L. Rausch, hat die geschilderten Regeln eingeführt.

3.4. Statistische Methoden

Im Folgenden bedeuten: x_1 = Einzelwert, n = Anzahl der Beobachtungen, $\bar{x}$ = arithmetischer Mittelwert nach (1), s = Streubreite der Einzelwerte nach (2), $s_{\bar{x}}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes nach (3).

$$\bar{x} = \frac{\sum x_1}{n} \quad (1)$$

$$s = \pm \sqrt{\frac{(\bar{x} - x_1)^2}{n - 1}} \quad (2)$$

$$s_{\bar{x}} = \pm \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (3)$$

Die Angabe von Vertrauensbereichen erfolgt durch die Berechnung $s_{\bar{x}} \cdot t$, wobei t unter Berücksichtigung der Freiheitsgrade und der gewünschten Signifikanzschwelle nachgeschlagen wird (CAVALLI-SFORZA, 1964).

Der Vergleich zweier Mittelwerte bzw. zweier Prozentsätze wurde mit Hilfe des t -Tests nach Formel (4) bzw. (5) durchgeführt.

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} \quad (4)$$

$$t = \frac{p_1 - p_2}{\sqrt{p_1(100 - p_1) + p_2(100 - p_2)}} \quad (5)$$

p_1, p_2 = prozentuale Häufigkeit von Beobachtungen

Die Berechnung von Ausgleichsparabeln erfolgte mit Hilfe der Methode der kleinsten Abweichungssumme (ZURMÜHL, 1965). Aus den Experimenten sind N Funktionswerte y_i mit den zugehörigen Argumentstellen x_i bekannt (Mittelwerte der Einzelbeobachtungen bei den untersuchten Zytostatika-Dosen), wobei zur Vereinfachung der Methode die x -Werte als genau angesehen, d.h. ihre Fehler durch zusätzliche y -Fehler ersetzt werden. Die gegebenen Funktionswerte y_i lassen erkennen, ob es sich bei dem gesuchten Ausgleichspolynom $\bar{y} = f(x_i)$ um eine lineare, quadratische oder Funktion höherer Ordnung handelt. Für die theoretische Ableitung soll eine quadratische Ausgleichsparabel angenommen werden, deren allgemeiner Ausdruck lautet

$$\bar{y}_i = a_0 + a_1 x_i + a_2 x_i^2. \quad (6)$$

Da Dosis-Wirkungs-Kurven durch den Nullpunkt des Koordinatensystems laufen müssen, kann die Konstante $a_0 = 0$ gesetzt werden. Dadurch vereinfacht sich das gesuchte Polynom zu

$$\bar{y}_i = a_1 x_i + a_2 x_i^2. \quad (7)$$

Gesucht werden die Koeffizienten a_1 und a_2 . Gleichzeitig besteht die Forderung, daß die Summe der Abweichungsquadrate (Q) der Ordinaten y_i zum Minimum werden soll:

$$Q = \sum (\bar{y}_i - y_i)^2 = \text{Minimum}. \quad (8)$$

Bei Einsetzen des Ausdrucks (7) erhält man

$$Q = \sum (a_1 x_i + a_2 x_i^2 - y_i)^2 = \text{Minimum} \quad (9)$$

Als notwendige Bedingung für einen Extremwert muß dann gelten

$$\frac{\partial Q}{\partial a_j} = 0 \quad (a_j = 1, 2). \quad (10)$$

Differenziert man den Ausdruck (9) nach den Koeffizienten a_1 und a_2 erhält man die Gleichungen

$$\frac{1}{2} \frac{\partial Q}{\partial a_1} = \sum (a_1 x_1 + a_2 x_1^2 - y_1) x_1 = 0 \quad (11)$$

$$\frac{1}{2} \frac{\partial Q}{\partial a_2} = \sum (a_1 x_1 + a_2 x_1^2 - y_1) x_1^2 = 0 \quad (12)$$

Dieses Gleichungssystem kann durch das Herausziehen eines x_1 -Gliedes vereinfacht werden, wie dies in den Gleichungen (13) und (14) verdeutlicht wird:

$$\sum (a_1 x_1 x_1 + a_2 x_1^2 x_1 - x_1 y_1) = 0 \quad (13)$$

$$\sum (a_1 x_1^2 x_1 + a_2 x_1^3 x_1 - x_1 x_1 y_1) = 0. \quad (14)$$

So erhält man das Gleichungssystem

$$\begin{aligned} a_1 \sum x_1 + a_2 \sum x_1^2 &= \sum y_1 \\ a_1 \sum x_1^2 + a_2 \sum x_1^3 &= \sum x_1 y_1 \end{aligned} \quad (15)$$

Für Ausgleichspolynome höheren Grades kann das Gleichungssystem beliebig erweitert werden

$$\begin{aligned} n a_0 + a_1 \sum x_1 + \dots + a_n \sum x_1^n &= \sum y_1 \\ a_0 \sum x_1 + a_1 \sum x_1^2 + \dots + a_n \sum x_1^{n+1} &= \sum x_1 y_1 \\ \vdots &\vdots \\ a_0 \sum x_1^n + a_1 \sum x_1^{n+1} + \dots + a_n \sum x_1^{2n} &= \sum x_1^n y_1 \end{aligned} \quad (16)$$

In das Gleichungssystem (15) werden die aus den experimentell gewonnenen Werten zu berechnenden Summen eingesetzt und das Gleichungssystem gelöst. Zur Kontrolle auf unterlaufene Rechenfehler dient die Berechnung von Q aus

$$Q = \sum \Delta y_1^2 \quad (\Delta y_1 = \bar{y}_1 - y_1) \quad (17)$$

und

$$Q = \sum y_1^2 - a_1 \sum x_1 y_1 - a_2 \sum x_1^2 y_1. \quad (18)$$

4. Das Verhalten des Hodengewichtes weißer Mäuse nach Röntgenbestrahlung, Actinomycin C - Medikation und Kombinationsbehandlung

4.1. Spezielle Methodik

4.1.1. Literatur zum Versuchsmodell

Die Abnahme des Hodengewichtes zeigt nach den Untersuchungen von ESCHENBRENNER et al. (1950), KOHN et al. (1954), LORENZ et al. (1947) und SILINI et al. (1963) ebenso wie die histologisch feststellbare Depopulation der Hodentubuli das Ausmaß der Strahlenschädigung dosisabhängig an. Die Hemmung der Spermiogenese bzw. Minderung des Hodengewichtes durch Zytostatika ist u.a. von CRAIG et al. (1958), JACKSON et al. (1955, 1959), RINGLEB (1967), SCHNEIDER (1967), STECKENMESSER (1968) und STEINBERGER et al. (1959, 1962) nachgewiesen. Eine Zusammenstellung der bisherigen Literatur zur radiologisch oder zytostatisch hervorgerufenen Schädigung des männlichen Keimepithels findet sich bei SCHNEIDER (1967). HACKMANN (1954) berichtete über das Actinomycin C, welches nach seinen Untersuchungen bei Ratten zu einer nicht über die Hemmung der Körpergewichtszunahme hinausgehenden Minderung des Hodengewichtes führte. MADDOCK et al. (1965) wiesen durch histologische Untersuchungen der Weite und des Zellbesatzes der Hodentubuli weißer Mäuse nach kombinierter Behandlung mit Röntgenstrahlen und Actinomycin D einen Effekt nach, der ihrer Ansicht nach größer war als eine reine Addition.

4.1.2. Versuchsanordnung

Die Versuchsanordnung wurde von RINGLEB (1967) und SCHNEIDER (1967) übernommen. Die 22,5 - 24, 5 g schweren Tiere wurden so in einen aus zwei Teilen zusammensteckbaren, halbröhrenförmigen Zinkblechkäfig gelegt, daß der Schwanz und das äußere Genitale durch einen Ausschnitt an der Ventralseite des Käfigs nach außen verlagert werden konnte. Ein Zurückrutschen der Testes in den Käfig wurde durch Heftpflasterfixation der Schwänze und leichtes Einklemmen an der Wurzel der Skroten mit Sicherheit verhindert. Der

Käfig lag mit der Ventralseite nach oben hinter einer 5 mm starken Bleiwand, deren Oberkante mit der Ventralseite des Käfigs in einer Ebene. Auf die Skroten wurde eine Normalkammer des Simplex-Dosimeters aufgelegt. Ein 2,5 cm-Rundtubus war so an die Bleiwand gerichtet, daß die Zentralstrahlen parallel zur Ventralseite des Käfigs zwischen Skroten und Dosimeterkammer hindurchgingen. Röhre MOD 150, 150 kV, HWD 0,65 mm Cu. Um eine homogene Dosisauslastung zu erreichen, wurde der Käfig nach der halben Bestrahlungszeit um 180° gedreht. Die mittlere Streustrahlenbelastung des Ganzkörpers konnte nach RINGLEB (1967) und SCHNEIDER (1967) mit etwa 3 % der Kammerdosis angenommen werden.

Die Tiere wurden am 20. Tag nach Behandlungsbeginn gewogen, mit Chloroform getötet und ihre Hoden nach Eröffnung der Bauchhöhle und Trennung von Fettkörper und Epididymis mit einer feinen Schere entfernt. Die entnommenen Hoden wurden bis zur Wägung in feuchten Kammern aufbewahrt. Die Wägung (nach Abtupfen mit Filterpapier) war spätestens 30 min nach der Tötung der Tiere beendet.

4.1.3. Versuche

165 Mäuse wurden in 8 Gruppen zu je 15 bzw. 30 Tieren aufgeteilt. Eine Gruppe diente als Kontrolle (Behandlung mit 5 x 0,2 ml phys. NaCl ip.). Vier Gruppen wurden fraktioniert im 48-Stunden-Rhythmus mit 5 x 3,3 TE, 5 x 6,6 TE, 5 x 10 TE und 5 x 20 TE Actinomycin C intraperitoneal behandelt, ebenso fraktioniert wurden zwei Gruppen einer lokalen Skrotalbestrahlung mit 5 x 20 R und 5 x 40 R unterzogen (zusätzlich 5 x 0,2 ml phys. NaCl ip.) und schließlich eine Gruppe kombiniert mit 5 x 20 R und 5 x 10 TE Actinomycin C behandelt. Die Actinomycininjektionen erfolgten maximal 1 Stunde nach Bestrahlung.

4.2. Ergebnisse

4.2.1. Das Verhalten der mittleren Körpergewichte und absoluten Hodengewichte in den Actinomycin C- und Röntgen-Behandlungsgruppen

Tab. 1 gibt einen Überblick über die mittleren Körpergewichte (p_0 und p_{20} in g) und die mittleren absoluten Hodengewichte (HG_{abs} in mg) aller Versuchsgruppen.

Sie zeigt eine dosisabhängige Minderung des absoluten Hodengewichtes in den einzelnen Actinomycin- und Röntgen-Behandlungsgruppen gegenüber der Kontrollgruppe. Deutlich wird außerdem, daß das mittlere Körpergewicht zu Versuchsende (p_{20}) der behandelten Mäuse bis zu 10,3 % unter dem der Kontrollen liegt. Es scheint so, als sei auch dieser Effekt innerhalb der Actinomycin-Reihe dosisabhängig. Nach den Untersuchungen von KOHN et al. (1954) besteht eine hohe, statistisch signifikante Korrelation zwischen dem Körpergewicht und dem Hodengewicht der Maus. Daher wurde, wie auch in den früheren Arbeiten dieser Versuchsreihe von RINGLEB (1967), SCHNEIDER (1967) und STECKENMESSER (1968) das relative Hodengewicht jedes Einzeltieres berechnet und bei den weiteren Überlegungen von diesen Werten ausgegangen.

4.2.2. Das mittlere relative Hodengewicht nach alleiniger Actinomycin C - Behandlung

Die mittleren relativen Hodengewichte (MG_{rel} in mg/g) sind aus Tab. 2 in absoluten und deren Abnahme gegenüber den Kontrollen in prozentualen Werten ersichtlich. Das mittlere relative Hodengewicht nimmt bei im 48-Stunden-Rhythmus fraktionierter Actinomycin C-Behandlung dosisabhängig ab. Die statistische Sicherung der Unterschiede innerhalb der Actinomycin-Reihe gelingt beim Vergleich der jeweils übernächsten Gruppen mit der Ausnahme, daß der Effekt von 5 x 6,6 TE auf Grund der geringen Tierzahl nur mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 10 % von 5 x 20 TE Actinomycin C abgegrenzt werden kann. Die Ergebnisse der t-Tests sind in Tab. 3 zusammengestellt.

4.2.3. Das mittlere relative Hodengewicht nach alleiniger skrotaler Röntgenbestrahlung

Die Abnahmen der relativen Hodengewichte durch fraktionierte Skrotalbestrahlung mit 5 x 20 R und 5 x 40 R (Tab. 2) sind statistisch sehr gut gegen die Kontrollen und gegeneinander abgrenzbar (Tab. 3). Zur Erstellung

Tab. 1: Fraktionierte Actinomycin C - Behandlung, fraktionierte lokale Skrotalbestrahlung und Kombination beider Maßnahmen. Gewicht der Mäuse zu Versuchsbeginn (p0) und 20 Tage später (p20) in g und % der Kontrollen. Mittleres absolutes Hodengewicht (Hg_{abs}) am 20. Tag nach Versuchsbeginn in mg und % der Kontrollen.

	N	p0 (g)	p20 (g)	p20 (%)	Hg _{abs} (mg)	Hg _{abs} (%)
<u>Kontrollen</u>	30	23,3	33,2	100	211,9	100
<u>Actinomycin C</u>						
5 x 3,3 TE	15	23,5	31,2	93,9	181,9	85,8
5 x 6,6 TE	15	23,3	31,0	93,3	169,9	80,1
5 x 10 TE	30	23,3	30,5	91,8	161,7	76,3
5 x 20 TE	15	23,0	29,8	89,7	148,7	70,1
<u>Röntgen</u>						
5 x 20 R	15	23,2	30,7	92,4	155,7	73,4
5 x 40 R	15	23,4	31,6	95,1	130,2	61,4
<u>Kombination</u>						
5 x 20 R +						
5 x 10 TE	30	23,6	31,3	94,2	131,7	62,1

Tab. 2: Fraktionierte Actinomycin C - Behandlung, fraktionierte lokale Skrotalbestrahlung und Kombination beider Maßnahmen. Mittleres relatives Hodengewicht (Hg_{rel}) in mg/g, Abnahme desselben in % der Kontrollen ($= 0\%$) und Standardabweichung (s_x) beider Werte.

	N	Hg_{rel} (mg/g)	s_x	Abnahme des Hg_{rel} (%)	s_x
<u>Kontrolle</u>	30	6,355	$\pm 0,0985$	0	$\pm 1,54$
<u>Actinomycin C</u>					
5 x 3,3 TE	15	5,821	$\pm 0,1661$	8,5	$\pm 2,59$
5 x 6,6 TE	15	5,478	$\pm 0,1884$	13,9	$\pm 2,92$
5 x 10 TE	30	5,300	$\pm 0,0950$	16,7	$\pm 1,49$
5 x 20 TE	15	4,989	$\pm 0,1563$	21,5	$\pm 2,44$
<u>Röntgen</u>					
5 x 20 R	15	5,063	$\pm 0,1681$	20,4	$\pm 2,63$
5 x 40 R	15	4,113	$\pm 0,1404$	35,3	$\pm 2,19$
<u>Kombination</u>					
5 x 20 R	30	4,199	$\pm 0,1437$	34,0	$\pm 2,24$
5 x 10 TE					

Tab. 2: Vergleich der Differenzen der mittleren relativen Hodengewichte über den t-Test. Angabe der P-Werte.

N		
30	Kontrolle	-
15	5 x 3,3 TE Act. C	0,01 -
15	5 x 6,6 TE Act. C	0,01 0,25 -
30	5 x 10 TE Act. C	0,01 0,01 0,50 -
15	5 x 20 TE Act. C	0,01 0,01 0,10 0,25 0,50 -
15	5 x 20 R	0,01 0,01 0,01 -
15	5 x 40 R	0,01 0,01 0,01 -
30	5 x 20 R + 5 x 10 TE Act. C	0,01 0,01 0,01 0,50 -

Kontrolle

5 x 3,3 TE Act. C

5 x 6,6 TE Act. C

5 x 10 TE Act. C

5 x 20 TE Act. C

5 x 20 R

5 x 40 R

5 x 20 R + 5 x 10 TE Act. C

einer Dosis-Wirkungs-Kurve werden die Ergebnisse von SCHNEIDER (1967) herangezogen, da sich bei der Gegenüberstellung dieser Ergebnisse mit den eigenen eine befriedigende Übereinstimmung zeigt (Tab. 4). Die in Abb. 2 gezeigte Dosis-Wirkungs-Kurve der fraktionierten Skrotalbestrahlung wurde mit Hilfe der Methode der kleinsten Abweichungsquadratsumme berechnet.

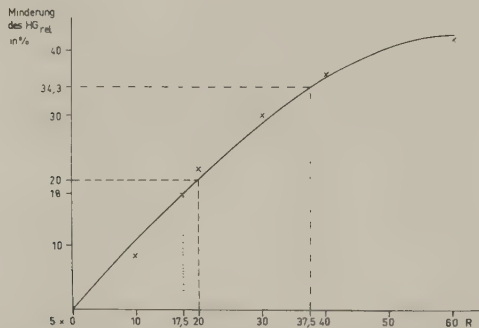


Abb. 2: Dosis-Wirkungs-Kurve fraktionierter lokaler Skrotalbestrahlung. Abnahme des mittleren relativen Hodengewichtes in % der Kontrollen. Die Werte (x) sind der Arbeit von SCHNEIDER (1967) entnommen, die Kurve mit Hilfe der Ausgleichsrechnung angenähert. Eingezeichnet ist die additive Kumulation der Wirkungen von 5 x 20 R (- - -) und 5 x 10 TE Actinomycin C (....) im Kombinationsversuch (-.-.).

4.2.4. Berechnung der Dosis-Wirkungs-Kurve der Minderung des relativen Hodengewichtes durch Actinomycin C-Behandlung

Als Beispiel für die Berechnung der Dosis-Wirkungs-Kurven der Minderung des relativen Hodengewichtes sei hier diejenigen für Actinomycin C angegeben. Zur Vereinfachung des Rechenvorganges werden die Dosisangaben in TE (5 x 3,3, 6,6, 10 und 20 TE) durch ganze Zahlen (1, 2, 3 und 5) ersetzt. Es wird ein quadratisches Aus-

Tab. 4: Fraktionierte lokale Skrotalbestrahlung. Abnahme der mittleren relativen Hodengewichte (Hg_{rel}) in % der Kontrollen. Vergleich der Ergebnisse von SCHNEIDER (1967) mit denen des Autors.

SCHNEIDER				AUTOR			
	N	Abnahme des Hg _{rel} (%)	s $\bar{x}$		N	Abnahme des Hg _{rel} (%)	s $\bar{x}$
5 x 10 R	10	8,3	± 9,30	-	-	-	-
5 x 20 R	30	21,7	± 1,13	15	20,4	± 2,63	
5 x 30 R	9	30,0	± 12,62	-	-	-	-
5 x 40 R	30	36,4	± 1,69	15	35,3	± 2,19	
5 x 60 R	30	41,8	± 1,45	-	-	-	-

gleichspolynom angenommen:

$$a_1 \sum x_i + a_2 \sum x_i^2 = \sum y_i$$

$$a_1 \sum x_i^2 + a_2 \sum x_i^3 = \sum x_i y_i$$

Zur Berechnung der erforderlichen Summen wird folgendes Schema erstellt (ZURMÜHL, 1965):

x_i	x_i^2	x_i^3	y_i	y_i^2	$x_i y_i$	$x_i^2 y_i$
1	1	1	8,5	72,25	8,5	8,5
2	4	8	13,9	193,21	27,8	55,6
3	9	27	16,7	278,89	50,1	150,3
5	25	125	21,5	462,25	107,5	537,5
11	39	161	60,6	1006,60	193,9	751,9

$$\begin{array}{rclcl}
 11a_1 & + & 39a_2 & = & 60,6 & : 11 \\
 39a_1 & + & 161a_2 & = & 193,9 & : 39 \quad \cdot -1 \\
 \hline
 \end{array}$$

$$a_2 = - 0,921999$$

$$a_1 = 8,777996$$

$$\bar{y} = 8,777996 x - 0,921999 x^2$$

Daraus ergeben sich die Einzelwerte:

x	$\bar{y}$
1	7,855
2	13,867
3	18,035
5	20,840

Kontrolle:

$$Q = \sum \Delta y_i^2 = 2,6362$$

$$Q = \sum y_i^2 - a_1 \sum x_i y_i - a_2 \sum x_i^2 y_i = 2,2023$$

4.2.5. Das relative Hodengewicht nach kombinierter Actinomycin C-Röntgen-Behandlung

Bei der Kombination von 5×20 R und 5×10 TE Actinomycin C konnten wir eine Abnahme des relativen Hodengewichtes um 34 % gegenüber den Kontrollen beobachten. Dieser Wert läßt sich statistisch sehr gut von den Einzeleffekten abgrenzen (Tab. 3), so daß eine Kumulation der Wirkungen als gesichert angenommen werden muß. Um eine Aussage über die Größe des Kombinations-effektes machen zu können, benutzt man als Maßstab die Summe der Einzeleffekte (= 37,1 % Minderung des HG_{rel}). Demnach würde der Effekt der Kombinationsbehandlung einen subadditiven Kombinationsmechanismus annehmen lassen. In diesem Zusammenhang war der Befund RINGLEBS (1967) auffallend, daß der Kombinationseffekt von 5×10 TE Endoxan + 5×20 R (= 35,8 % Minderung des HG_{rel}) nicht der Summe der einander wirkungsgleichen Einzeleffekte (= 42,7 %), wohl aber der Verdoppelung der Röntgendosis auf 5×40 R (= 36,4 %) entsprach. Wir gingen nun davon aus, daß die Reduktion des relativen Hodengewichtes durch fraktionierte zytostatische Behandlung einer bestimmten, auf der Dosis-Wirkungs-Kurve der fraktionierten Bestrahlung (Abb. 2) ablesbaren Röntgendosis äquivalent ist. So entspricht die Wirkung von 5×10 TE Actinomycin C (= 18,0 %) der von $5 \times 17,5$ R. Bei einer Addition der Wirkungen nach der Dosis-Wirkungs-Kurve der fraktionierten Bestrahlung müßte folglich die Kombinationsbehandlung eine Schädigung zeigen, die der von $5 \times 17,5$ R + 5×20 R = $5 \times 37,5$ R gleicht. Nach Abb. 2 nimmt das relative Hodengewicht nach $5 \times 37,5$ R um 34,3 % ab, während die Kombinationsbehandlung einen Effekt von 34 % erbrachte. Die Wirkungen von 5×20 R und 5×10 TE Actinomycin C kumulieren folglich in Bezug auf die Minderung des relativen Hodengewichtes im Rahmen der Dosis-Wirkungs-Kurve der fraktionierten Bestrahlung in additiver Weise.

4.3. Diskussion

Bei unseren Untersuchungen sahen wir eine dosisabhängige Minderung sowohl des absoluten, als auch des relativen Hodengewichtes nach Actinomycin C-Medikation. Dabei war das absolute Hodengewicht immer stärker erniedrigt als das Körpergewicht.

Bei der unserer niedrigsten Dosis von $5 \times 3,3$ TE Actinomycin C (= 5×25 /kg) vergleichbaren Dosis von 7×20 /kg an 7 aufeinanderfolgenden Tagen beobachtet HACKMANN (1954) an Ratten 10 Tage nach Versuchsbeginn (d.h. 3 Tage nach der letzten Injektion) keine über die Reduktion des Körpergewichtes hinausgehende Minderung des absoluten Hodengewichtes. Diese unterschiedlichen Beobachtungen dürften durch die unterschiedliche Tierart und besonders durch den unterschiedlichen Beobachtungszeitpunkt erklärt werden können. Daß dieser bei der Betrachtung der radiologischen und zytostatischen Beeinflussung des Keimepithels eine Rolle spielt, zeigen die Ergebnisse SCHNEIDERS (1967), der bei fraktionierte mit Endoxan behandelten Mäusen die prozentual angegebenen Körper- und Hodengewichte am 10. Tag nach Behandlungsbeginn etwa gleich beeinflusst fand, während 10 Tage später das Hodengewicht relativ stärker erniedrigt war.

In den eigenen Untersuchungen führte die Kombination von fraktionierter, lokaler Skrotalbestrahlung und fraktionierter Actinomycin C-Behandlung zu einer Kumulation der Wirkungen auf das relative Hodengewicht, deren Ausmaß im Vergleich mit der Dosis-Wirkungs-Kurve der fraktionierten Bestrahlung als Addition angesehen wird. Wurde der Kombinationseffekt aber mit der Summe der Einzeleffekte verglichen, so entsprach dies nur einer Subaddition.

MADDOCK et al. (1965) sahen 30 Tage nach einmaliger Injektion (Verfasser: 10 Tage nach der letzten von 5 Injektionen) von 75 bzw. 150 /kg Actinomycin D (= 1×11 bzw. 1×22 TE Actinomycin D; LD₅₀ nach MANAKER et al. (1954) 0,67 - 0,74 mg/kg) ebenfalls keine Abnahme des Hodengewichtes weißer Mäuse, beschrieben aber histologische Veränderungen der Hodentubuli mit Verringerung des Zellbesatzes. Diesen Widerspruch in ihren Ergebnissen empfanden die Autoren selbst. Nach Kombination mit 300 bzw. 600 R, wesentlich höheren Dosen als der Verfasser verwandte, entsprachen die Hodengewichtsabnahmen nur denen, die schon nach alleiniger Bestrahlung beobachtet worden waren. Die histologischen Bilder der Kom-

binationsgruppen zeigten allerdings deutlich über die durch alleinige Bestrahlung verursachte Tubuluszellschädigung hinausgehende Effekte, die von MADDOCK et al. als superadditiver Art gedeutet wurden.

Einen Vergleich der fraktionierten Actinomycin C-Behandlung mit der prozentualen Minderung des relativen Hodengewichtes durch Endoxan, Natulan, Proresid und 5-Fluoruracil gibt Abb. 3. Die Werte für Endoxan wurden den Arbeiten von RINGLEB (1967) und SCHNEIDER (1967), die für Natulan, Proresid und 5-Fluoruracil der Arbeit von STECKENMESSER (1968) entnommen. Aus diesen Werten wurden mit Hilfe der in den Abschnitten 3.4. und 4.2.4. erläuterten Methode der kleinsten Abweichungssumme die Dosis-Wirkungs-Kurven berechnet. Insgesamt ergibt sich, daß Endoxan, Natulan und Actinomycin C gleichartige Kurven zeigen, die sich ihrer Form nach von denen für Proresid und 5-Fluoruracil deutlich unterscheiden. Ob dem für die Aussage über das Ausmaß der Kombinationschädigung eine Bedeutung zukommt, wird später noch zu untersuchen sein. Beachtenswert sind die relativ großen

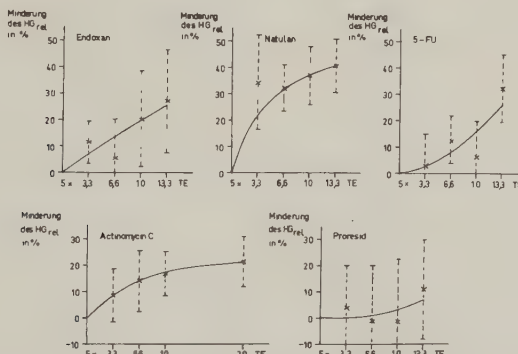


Abb. 3: Fraktionierte zytostatische Behandlung. Abnahme des relativen Hodengewichtes in % der Kontrollen mit eingezeichneter Standardabweichung (s_x). Die Werte der Endoxanbehandlung wurden der Arbeit von SCHNEIDER (1967) entnommen, die der Natulan-, 5-FU- und Proresidbehandlung der Arbeit von STECKENMESSER (1968). Der Verlauf der Kurven wurde durch die Ausgleichsrechnung bestimmt.

Unterschiede, die durch gleiche therapeutische Einheiten verschiedener Zytostatika erzielt worden sind. Die wirksamste Substanz ist Natulan, das bereits in relativ niedriger Dosierung eine Reduktion des relativen Hodengewichtes um 30 - 35 % bewirkt.

In Tab. 5 sind die Ergebnisse der Einzeleffekte von 5 x 10 TE und der Kombinationsbehandlung (5 x 10 TE + 5 x 20 R) der 5 in unserer Arbeitsgruppe untersuchten Zytostatika Endoxan (RINGLEB, 1967, SCHNEIDER, 1967), Natulan, Proresid, 5-Fluoruracil (STECKENMESSER, 1968) und Actinomycin C der arithmetischen Summe der Einzeleffekte gegenübergestellt. Zusätzlich wurde versucht mit dem für das Actinomycin C angewandten Verfahren eine Aussage über die Größe des Kombinationseffektes der anderen Zytostatika zu machen. Nach Tab. 5 kann gesagt werden, daß neben Actinomycin C auch Endoxan und Natulan im Vergleich mit der Summe der Einzeleffekte subadditive Kombinationseffekte aufweisen, die Kumulation der Wirkungen jedoch, wie bereits oben für Actinomycin C beschrieben, in additiver Weise im Rahmen der Dosis-Wirkungs-Kurve der fraktionierten Bestrahlung erfolgt. Dagegen zeigen Proresid und 5-Fluoruracil ein anderes Verhalten. Der Kombinationseffekt ist bei diesen Substanzen größer als die Summe der Einzeleffekte, was einer Superaddition entspricht. Gleichzeitig kumulieren diese Substanzen nicht im Rahmen der Dosis-Wirkungs-Kurve der fraktionierten Bestrahlung. Eine geometrische Erklärung hierfür bietet der unterschiedliche Verlauf der Dosis-Wirkungs-Kurven der verschiedenen Zytostatika (Abb. 3). Zeichnet man nämlich diese Kurven so in die Kurve der fraktionierten Bestrahlung ein, daß der jeweilige Wert für 5 x 10 TE auf dieser Kurve zu liegen kommt (Abb. 4), so zeigt sich, daß die Werte für 5 x 13,3 TE bzw. 5 x 20 TE der Zytostatika Endoxan, Natulan und Actinomycin C auf bzw. unter dieser Kurve,

Tab. 5: Abnahme der mittleren relativen Hodengewichte in % der Kontrollen nach 5 x 10 TE Endoxan, Natulan, Proresid, 5-Fluoruracil und Actinomycin C, sowie nach Kombination der 5 Substanzen mit 5 x 20 R. Angabe eines Additions-Solls (arithmetische Summe der Einzelleffekte) und des nach der Dosis-Wirkungs-Kurve der fraktionierten Bestrahlung bestimmten additiven Kombinationseffektes. Es sind die Werte, die anhand der Ausgleichsrechnung bestimmt wurden, eingesetzt worden.

	5 x 10 TE bewirkt % Rückgang H _{rel}	Dies entspricht der Wirkung von 5 x n ₁ R	5 x n ₁ R + 5 x 20 R ergibt 5 x n ₂ R	Diese bewirken nach der Dosis-Wirkungs-Kurve der skro- talen Röntgen- bestrahlung (Abb. 2)	Experimentelles Ist	Additions- Soll aus den Einzellef- ekten
Actinomycin C	18,0 %	5 x 17,5 R	5 x 37,5 R	34,3 %	34,0 %	37,8 %
Endoxan	19,5 %	5 x 19,5 R	5 x 39,5 R	35,6 %	34,9 %	39,7 %
Natulan	37,1 %	5 x 41,5 R	5 x 61,5 R	42,8 %	41,3 %	57,3 %
Proresid	3,7 %	5 x 3,5 R	5 x 23,5 R	23,1 %	33,0 %	23,9 %
5-Fluoruracil	16,3 %	5 x 16,0 R	5 x 36,0 R	33,4 %	40,2 %	36,5 %

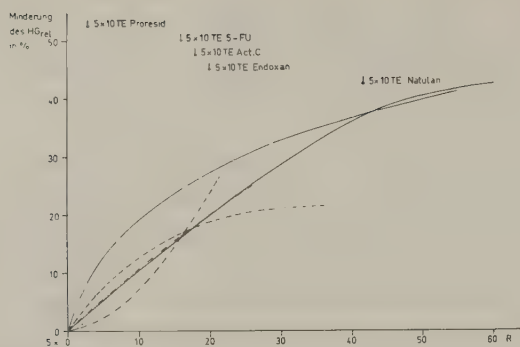


Abb. 4: Die Dosis-Wirkungs-Kurven der zytostatisch bedingten Minderung des relativen Hodengewichtes sind so in die Kurve der fraktionierten Bestrahlung (—) eingezeichnet, daß der jeweilige Wert für 5×10 TE der Zytostatika Natulan (— · —), 5-FU (- · - · -), Endoxan (- · - · - · -), Actinomycin C (- - -) und Proresid (....) auf diese Kurve zu liegen kommt.

die Werte für $5 \times 13,3$ TE Proresid und 5-Fluoruracil aber oberhalb derselben liegen. Demnach scheint die Folgerung erlaubt, daß bei der Kombination von fraktionierter lokaler Bestrahlung und in der gleichen Weise fraktionierten zytostatischen Behandlung mit Endoxan, Natulan und Actinomycin C in Bezug auf die Minderung des relativen Hodengewichtes der Kombinationseffekt den Möglichkeiten des im Bereich der Kombinationswirkung wirksameren Einzelagens, nämlich der Bestrahlung, folgt. Ob diese Hypothese auch für die Kombinationsbehandlung mit Proresid und 5-Fluoruracil zutrifft, wobei nach Abb. 4 die Zytostatika die im Bereich der Kombinationswirkung wirksameren Einzelagentien darstellen würden, und die Kumulation der Wirkungen im Rahmen ihrer Dosis-Wirkungs-Kurven erfolgen sollte, müßte durch die Beobachtung des Hodengewichtes unter höheren Dosen dieser Zytostatika geklärt werden.

Vom Zutreffen dieser Hypothese wird das Ergebnis unserer Untersuchungen, nämlich der Nachweis einer Kumulation der Schädigung des Mäusehodens durch Kombination von Röntgenstrahlen und Actinomycin C, keinesfalls in Frage gestellt.

4.4. Zusammenfassung der Ergebnisse der Hodenversuche

Nach fraktionierter Actinomycin C-Medikation wurde eine dosisabhängige Abnahme des relativen Hodengewichtes beobachtet. Die Kombination mit fraktionierter lokaler Skrotalbestrahlung ergab eine Kumulation der Wirkungen, die aus der Dosis-Wirkungs-Kurve der fraktionierten Bestrahlung als additiv angesehen werden muss. Den Wirkungsgrad des Kumulationseffektes über die Summe der Einzeleffekte zu bestimmen, halten wir für weniger tunlich.

5. Die Beeinflussung des Heilungsverlaufes von Stanzwunden in Mäuseohren durch Actinomycin C-Medikation und Kombination dieser Maßnahme mit lokaler Ohrbestrahlung

5.1. Spezielle Methodik

5.1.1. Literatur zum Versuchsmodell

Mit der Beobachtung des Heilungsverlaufes von Stanzlöchern in Kaninchenohren führten HEITE (1955) et al. (1956) ein Versuchsmodell ein, mit dem sich die gewebeschädigende Wirkung einer Bestrahlung quantitativ und vergleichend erfassen läßt, und das nach RAUSCH (1961, 1962 a + b) auch zur Bearbeitung strahlenbiologischer Fragestellungen geeignet ist. RAUSCH (1965) et al. (1966) sowie QUAST (1967) lochten auch Mäuseohren und konnten ähnliche Befunde wie am Kaninchenohr erheben. Differenzen in der Abheilungsgeschwindigkeit zwischen linken und rechten Ohren bestehen nach RAUSCH et al. (1966) nicht. Eine Beeinflussung der Bildung von Granulationsgewebe durch Zytostatika ist aus den Untersuchungen von HOPPE (1962), KARRER (1963), RINGLEB (1967), SCHAUDIG (1962) und STECKENMESSER (1968) bekannt. RINGLEB (1967) und STECKENMESSER (1968) wiesen nach radiologisch-zytostatischer Kombinationsbehandlung eine Verzögerung der Abheilung von Ohrstanzwunden nach, die deutlich größer war als die durch alleinige radiologische oder zytostatische Behandlung hervorgerufene Behinderung der Stanzlochheilung. STECKENMESSER (1968) schloß aus dieser Beobachtung auf einen superadditiven Kombinationsmechanismus.

5.1.2. Versuchsanordnung

Die Versuchsanordnung wurde von RINGLEB (1967) übernommen. Die aus einem Drahtkäfig herausragenden Ohren weiblicher Mäuse (Gewicht 20 - 25 g) wurden in ihrer Mitte

unter Vermeidung des Anstechens großer Gefäße mit einer Silberstahlstanze (Durchmesser 0,5 mm) gegen eine Holzunterlage gelocht. Anschließend wurde das rechte Ohr auf Leukoplast gedrückt und zur Bestrahlung so an einem Glastubus von 1 cm lichter Weite fixiert, daß das ganze Ohr ausgestrahlt wurde. Röhre FA 100/25, 30 kV, 25 mA, 0,3 mm Al-Filter, HWD 0,2 mmAl, FHA 10 cm, Dosisleistung 2205 R/' , Bestrahlungszeit für 1000 R Oberflächendosis 28 ''.

Der Heilungsverlauf der Ohrstanzwunden wurde täglich kontrolliert und nach folgender Stadieneinteilung protokolliert: I. Das Stanzloch hat seine ursprüngliche Größe oder ist größer. - II. Das Stanzloch ist deutlich kleiner. - III. Das Stanzloch ist geschlossen. - Zur Beurteilung der Stanzlochgröße wurde das Ohr mit bloßem Auge gegen durchfallendes Tageslicht angesehen. Ein Stanzloch wurde als geschlossen betrachtet, wenn an der Stanzstelle kein Licht mehr durchfiel. Die Änderung des Körpergewichts wurde an jedem 10. Tag aufgezeichnet.

5.1.3. Versuche

Es wurden bei 30 weiblichen Mäusen beide Ohren gestanzt, das rechte Ohr 30 - 60 sec später mit 1000 R belegt und die Tiere dann mit 8 TE Actinomycin C ip. täglich bis zum 31. Tag nach der Stanzung behandelt (Gruppe 2). Die Werte einer Gruppe 1 (linkes Ohr unbehandelt, rechtes Ohr mit 1000 R bestrahlt) wurden der Arbeit von RINGLEB (1967) entnommen. Da in beiden Fällen die gleiche Versuchsanordnung benutzt wurde, sollte ein Vergleich der Ergebnisse möglich sein.

5.2. Ergebnisse

Von den 30 Tieren, mit denen der Versuch begonnen wurde, starben 3 (10 %) während der Beobachtungszeit und wurden aus der Betrachtung des Heilungsverlaufes gänzlich ausgeschlossen. Außerdem rissen durch ungeschicktes Stanzen 3 Stanzlöcher ein, sodaß zur Auswertung insgesamt noch 26 linke und 25 rechte Ohren zur Verfügung standen.

Tab. 6 zeigt den Heilungsverlauf der Ohrstanzwunden entsprechend der Stadieneinteilung während des Beobachtungszeitraumes. Der Kürze halber sind nur die Werte für jeden

Tab. 6: Heilungsverlauf von Stanzlöchern in Mäuseohren nach radiologischer Actinomycin C - und kombinierter Behandlung. I = Loch unverändert, II = Loch kleiner, III = Loch geschlossen.

		Tag nach Stanzung													
		7.	9.	11.	13.	15.	17.	19.	21.	23.	25.	29.	31.	35.	37.
Gruppe	Behandlung	Stadium													
1 links	keine	68	I	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			II	46	20	10	1	-	-	-	-	-	-	-	-
			III	20	47	58	67	68	-	-	-	-	-	-	-
1 rechts	1000 R	68	I	21	7	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-
			II	42	46	31	14	5	3	3	2	-	-	-	-
			III	5	15	35	50	63	65	65	66	68	-	-	-
2 links	8 TE Actino- mycin C/d	26	I	14	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
			II	12	25	25	24	16	13	11	8	6	5	4	4
			III	-	-	-	1	10	13	15	18	20	21	21	22
2 rechts	8 TE Acti- nomycin C/d + 1000 R	25	I	24	12	6	4	2	2	2	2	2	2	2	1
			II	1	13	19	21	23	23	23	23	23	23	23	23
			III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Fortsetzung von Tab. 6:

Tag nach Stanzung

Gruppe	Behandlung	N	Stadium	39. 41. 43. 45. 47. 49. 51. 53. 55. 61. 63. 99.														
				-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 links	8 TE Actino- mycin C/d	26	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			II	3	2	2	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			III	23	24	24	25	25	26	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 rechts	8 TE Actino- mycin C/d + 1000 R	25	I	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			II	23	22	23	23	22	21	19	19	19	18	18	17	17	17	17
			III	1	2	2	2	3	4	6	6	6	7	7	8	8	8	8

2. Tag, beginnend mit dem 7. Tag nach der Stanzung, angegeben. Es ist ersichtlich, daß sich die Stanzwunden der unbehandelten Tiere am 15. Tag, die der mit 1000 R bestrahlten am 23. Tag und die der bis zum 31. Tag nach Stanzung mit täglich 8 TE Actinomycin C behandelten Tiere bis zum 48. Tag sämtlich geschlossen haben. Obwohl über drei Monate nachbeobachtet wurde, schlossen sich von den 25 bestrahlten Stanzwunden der Actinomycin-Tiere nur 8. In Tab. 7 sind die Prozentsätze der Stanzlöcher in den Stadien I + II (unverändert + deutlich kleiner) und III (geschlossen) der Gruppen 1 links (unbehandelt), 1 rechts (1000 R), 2 links (8 TE Actinomycin C täglich) und 2 rechts (Ohr 1000 R, Tier 8 TE Actinomycin C täglich) einander gegenübergestellt. Gleichzeitig erfolgt die Angabe der Irrtumswahrscheinlichkeiten der Abheilungsdifferenzen zwischen den einzelnen Gruppen. Abb. 5 zeigt den Heilungsverlauf (Stadium III) der verschiedenen Behandlungsgruppen anhand der relativen Werte aus Tab. 2. Die Bestrahlung verzögert die Abheilung der Stanzwunden zwischen dem 7. und 15. Tag mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von kleiner 5 %. 8 TE Actinomycin C/d über 32 Tage verzögert die Heilung statistisch gesichert ($IW < 5\%$) zwischen dem 7. und 35. Tag. Die Heilung der Stanzwunden kombiniert behandelter Tiere verläuft ab dem 15. Tag statistisch gesichert langsamer als die der nur mit Actinomycin C behandelten Tiere. Unzweifelhaft findet eine Kumulation der Effekte statt.

Das Verhalten des Körpergewichtes als Ausdruck der Situation des Gesamtorganismus ist in Abb. 6 dargestellt. Die Kontrolltiere nehmen bis zum 10. Tag nach Stanzung 3,05 g, bis zum 30. Tag 7,08 g und bis zum 50. Tag 10,36 g zu. Die bis zum 31. Tag nach Stanzung mit 8 TE Actinomycin C/d behandelten Mäuse nehmen bis zum 10. Tag 1,10 g ab, bis zum 30. Tag 0,57 g ab und bis zum 50. Tag 6,02 g zu. Es unterscheidet sich das Körpergewichtsverhalten der Tiere, deren rechte Ohren (1000 R + 8 TE Actinomycin C/d) abgeheilt sind (am 30. Tag $24,57 \pm 1,61$ g) deutlich von dem der übrigen 17 Tiere

Tab. 7: Prozentuale Stadienhäufigkeit beim Heilungsverlauf gestanzter Mäuseohren. I + II = Stanzloch offen, III = Stanzloch geschlossen. Die beim Vergleich der Abheilungs-
raten (Stadium III) innerhalb der beiden Gruppen über den t-Test berechneten Irr-
tumswahrscheinlichkeiten (IW) sind in % angegeben.

Gruppe	Behandlung	N	Stadium	Tag nach Stanzung										
				7.	11.	15.	19.	23.	27.	31.	35.			
1 links	keine	68	I + II	70,6	14,7	0	0							
			III	29,4	85,3	100	100							
			IW <	1	1	5	10							
1 rechts	1000 R	68	I + II	92,6	51,5	7,4	4,4	0						
			III	7,4	48,5	92,6	95,6	100						
			IW <											
2 links	8 TE Acti- nomycin C/d	26	I + II	100	100	61,5	42,3	23,1	19,2	15,4	15,4			
			III	0	0	38,5	57,7	76,9	80,8	84,6	84,6			
			IW			5	1	1	1	1	1			
2 rechts	8 TE Acti- nomycin C/d + 1000 R	25	I + II	100	100	100	100	100	100	100	100			
			III	0	0	0	0	0	0	0	0			
			Fortsetzung Tag nach Stanzung				39.	43.	47.	51.	55.	59.	63.	99.
2 links	8 TE Acti- nomycin C/d	26	I + II	11,5	7,7	3,8	0	0	0	0	0	0		
			III	88,5	92,3	96,2	100	100	100	100	100			
			IW <	1	1	1	1	1	1	1	1			
2 rechts	8 TE Acti- nomycin C/d + 1000 R	25	I + II	96,0	92,0	88,0	76,0	72,0	72,0	68,0	68,0			
			III	4,0	8,0	12,0	24,0	28,0	28,0	32,0	32,0			

(am 30. Tag $21,15 \pm 3,35$ g). Diese Differenz läßt sich für den 30. Tag statistisch sichern ($IW < 1\%$). Eine Beziehung zwischen dem Körpergewichtsverhalten und der Abheilung der linken, in ihrer Heilung nur durch Actinomycin C beeinflussten Ohren konnten wir nicht sichern, möglicherweise auf Grund der geringen Tierzahl, oder auch da sich der Einfluß der Allgemeinschädigung durch das Zytostatikum auf die Heilung der Stanzlöcher erst bei einem größeren lokalen Schädigungsgrad bemerkbar machen kann.

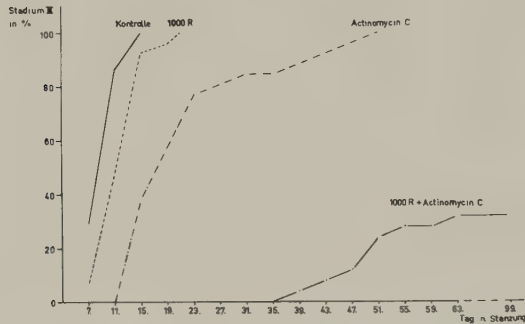


Abb. 5: Heilungsverlauf von Stanzlöchern in Mäuseohren. Relative Häufigkeit des Stadium III (= Stanzloch geschlossen).

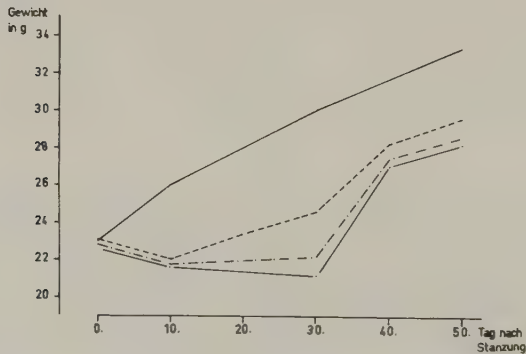


Abb. 6: Verhalten der mittleren Körpergewichte unter 8 TE Actinomycin C/d und der Kontrollgruppe (—).

- .-.-. = Mittelwerte der Actinomycingruppe (N = 25)
- - - = rechtes (bestrahltes) Ohr geschlossen (N = 8)
- = rechtes (bestrahltes) Ohr nicht geschlossen (N = 17)

5.3. Diskussion

Die im Vergleich mit den Einzeleffekten wesentlich stärkere Verzögerung der Heilung von Ohrstanzwunden, wie wir sie für Actinomycin C in Kombination mit lokaler Bestrahlung nachgewiesen haben, stellt durchaus ein normales Versuchsergebnis bei radiologisch-zytostatischer Kombinationsbehandlung an diesem Versuchsmodell dar. Dies soll in Abb. 7 anhand der Tage des Erreichens der 50 % - Heilungsrate für die bisher untersuchten Zytostatika Endoxan (RINGLEB, 1967), Natulan, Proresid, 5-Fluoruracil (STECKENMESSER, 1968) und Actinomycin C dokumentiert werden. STECKENMESSER schloß aus der starken Verzögerung bzw. Hemmung der Stanzlochheilung durch die Kombinationsbehandlung für die untersuchten Zytostatika auf einen superadditiven Kombinationseffekt. Dabei wird vorausgesetzt, daß die Heilungstendenz des gestanzten Ohres während des gesamten Beobachtungszeitraumes konstant bleibt, also die erzielten Heilungsverzögerungen bzw. -hemmungen nur auf die stattgehabte Behandlung zurückzuführen sind. Es ist jedoch möglich, daß die Heilungstendenz abnimmt, und zwar umso mehr, je länger die Heilung verzögert wird. Dies würde bedeuten, daß zwar durch die Kumulation der Einzeleffekte die Stanzlochheilung stärker beeinflußt wird, aber der am Ende des Beobachtungszeitraumes festzustellende Effekt durch die abnehmende Heilungstendenz noch verstärkt worden wäre. Zudem sind keine Dosis-Wirkungskurven erstellt worden, so daß die Möglichkeit, daß die scheinbar superadditiven Kombinationseffekte nach dem Verlauf der Kurven als einfache Addition betrachtet werden müßten, nicht auszuschließen ist. Diese Einwände schließen einen superadditiven Kombinationseffekt nicht aus, es scheint uns nur, daß eine sichere Aussage erst nach weiteren Untersuchungen möglich ist. Uneingeschränkt gilt allerdings, daß die Wirkungen der zytostatischen

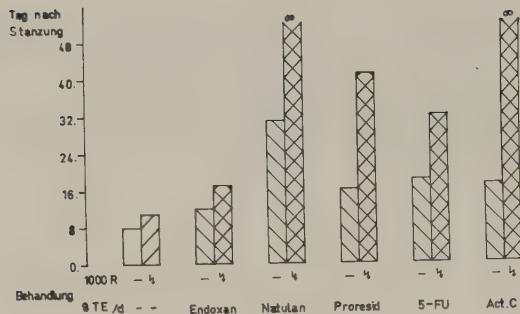


Abb. 7: Mittlere geometrische Heilung nach radiologisch, zytostatisch und kombiniert beeinflusstem Heilungsverlauf von Mäuseohrstanzwunden.

Langzeitbehandlung und der lokalen, einzeitigen Ohrbestrahlung in Bezug auf die Verzögerung der Abheilung von Ohrstanzwunden kumulieren.

5.4. Zusammenfassung der Ergebnisse der Ohrstanzversuche

Die Heilung von Stanzwunden in Mäuseohren wird durch einzeitige lokale Ohrbestrahlung (1000 R Oberflächen-dosis) und anschließende zytostatische Langzeitbehandlung (8 TE Actinomycin C/d ip. über 32 Tage) wesentlich stärker verzögert als durch die Einzelagentien. Inwieweit diese Beobachtung einem superadditiven Kombinationseffekt entspricht, wird diskutiert.

6. Das Verhalten des Schwanzlängenwachstums infantiler Mäuse nach zytostatischer und kombiniert radiologisch-zytostatischer Behandlung

6.1. Spezielle Methodik

6.1.1. Literaturübersicht zum Versuchsmodell

Der erste experimentelle Bericht über radiogene Wachstumsstörungen des jugendlichen Skeletts wurde 1903 von PERTHES veröffentlicht. Über weitere Untersuchungen und entsprechende Beobachtungen am Menschen wurde in der Folgezeit u.a. von FÖRSTERLING (1906, 1909), BECK (1929), BAUNACH (1935), MONTAG (1951), COHN et al. (1953), GÜNSEL (1953), SISSONS (1956), CANEGHEM et al. (1957) und HORVATH et al. (1962) berichtet. Zusammenfassende Übersichten finden sich bei GAUWERKY (1960), WACHTLER (1961) und RAUSCH et al. (1964). WRIGHT et al. (1956) beobachteten die Wachstumshemmung bestrahlter infantiler Mäuseschwänze. Dieses Modell wurde auch von QUAIST (1967), RINGLEB (1967) und STECKENMESSER (1968) benutzt. Die beiden letztgenannten Autoren fanden bei radiologisch-zytostatischer Kombinationsbehandlung in Bezug auf die Wachstumshemmung subadditive bis superadditive Kombinationseffekte. Nach QUAIST (1967) bestehen bei der radiogenen Wachstumshemmung des Mäuseschwanzes keine Geschlechtsunterschiede.

6.1.2. Versuchsanordnung

Die Versuchsanordnung folgte der von RINGLEB (1967) und STECKENMESSER (1968). Je 9 infantile Mäuse aus eigener Zucht wurden zur Bestrahlung in einer zehnfach durchbohrten Plexiglasscheibe so untergebracht, daß ihr Körper durch eine Bleiauflage strahlengeschützt war, die Schwänze jedoch auf einer zentralen ungeschützten Bleipflasterplatte von 6 cm Durchmesser vorsichtig fixiert werden konnten. Ein zirkulär angeordneter Bleistreifen schützte die Tiere vor Streustrahlen, gleichzeitig wurde aber dadurch die Schwanzwurzel nicht mitbestrahlt. Die Normalkammer des Simplex-Dosimeters

wurde durch die zehnte Öffnung geschoben und so auf der Bleipflasterplatte im Zentrum angeordnet, daß sich die Kammermitte auf gleicher Höhe mit den Schwanzmitten befand. Röhre MOD 150, 85 kV, HWD 1,7 mm Al, 12 cm-Rundtubus, Fokus-Schwanzmitten-Abstand 32 cm, Dosierung mitmessend. Die Streustrahlenbelastung des Ganzkörpers wurde von RINGLEB (1967) mit 2 % der Dosis in der Mitte der Bleipflasterplatte angegeben. QUAST (1967) hatte nach 15 R Ganzkörperbestrahlung (entspricht 1,5 % der Dosis im Zentrum) keinen Einfluß auf das Körpergewichtsverhalten infantiler Mäuse beobachten können.

In den Versuch genommen wurden Würfe mit 8 - 10 Jungen. Wurden mehr Tiere geworfen, so wurden die Neugeborenen getötet. Die Tiere mußten die 6 g-Körpergewichtsgrenze zwischen dem 7. und 14. Tag nach der Geburt erreicht haben. Die Schwanzlängen wurden mit Hilfe eines graduierten Plexiglasröhrchens gemessen, das nur bis an den Schwanzhaaranatz vorgeschoben wurde, da die ersten 2 mm des Schwanzes nicht mitbestrahlt worden waren. Die Beobachtung des Schwanzlängenwachstums erfolgte bis zum 30. Tag nach Behandlungsbeginn, entsprechend der 6. - 7. Lebenswoche. Tiere, die den 30. Tag nach Behandlungsbeginn nicht erlebten, wurden aus der Betrachtung gänzlich ausgeschieden.

6.1.3. Versuche

Von 32 Würfen mit insgesamt 310 Jungen, die den oben genannten Bedingungen entsprachen, wurden 17 Würfe einer im 48 Stunden-Rhythmus fraktionierten Actinomycin C-Behandlung mit Dosen von 5 x 3,3 TE, 5 x 6,6 TE, 5 x 13,3 TE und 5 x 20 TE Actinomycin C ip. unterzogen. Dabei dienten 2 - 3 Tiere pro Wurf als Kontrollen (5 x 0,05 ml phys. NaCl ip.). In den anderen 15 Würfen wurden die Schwänze der Jungen einzzeitig mit 1000 R bestrahlt und die Tiere anschließend fraktioniert mit 5 x 3,3 TE, 5 x 6,6 TE und 5 x 13,3 TE Actinomycin C ip. behandelt. 2 - 3 Mäuse pro Wurf wurden bestrahlt und mit 5 x 0,05 ml phys. NaCl ip. nachbehandelt.

6.2. Ergebnisse

Von den 2 Würfen, die mit 5 x 20 TE Actinomycin C ip. behandelt worden waren, starben alle Tiere vor dem 30. Tag. In den anderen Behandlungsgruppen lag die Letalität zwischen 4,7 % (5 x 3,3 TE Actinomycin C) und 28,5 % (1000 R + 5 x 13,3 TE Actinomycin C).

In Tab. 8 sind die mittleren Körpergewichte und Schwanzlängen aller Behandlungsgruppen vom 0., 10. und 30. Tag nach Behandlungsbeginn in absoluten (g bzw. cm) und relativen (% der Kontrollen) Werten einander gegenübergestellt. Es wird ersichtlich, daß in allen Behandlungsgruppen der Actinomycin-Reihe die Körpergewichtszunahme stärker beeinflußt wird als das Schwanzlängenwachstum. Deutlich wird außerdem, daß sich in der Actinomycin-Reihe die Schwanzlängenrückstände am 10. und 30. Tag im Gegensatz zu den zusätzlich oder alleinig bestrahlten Würfen kaum unterscheiden. Die beobachtbare Schädigung der Bestrahlung setzt erst mit einer Latenz von über 10 Tagen ein.

Zur statistischen Auswertung der Ergebnisse ist nach QUAST (1967) und RINGLEB (1967) der Längenzuwachs zwischen dem 0. und 30. Tag nach Behandlungsbeginn besser geeignet als die absolute Schwanzlänge am 30. Tag, da ersteres Kriterium die geringste Streuung um den Mittelwert aufwies. Wir berechneten daher den absoluten Schwanzlängenzuwachs (W_{abs}) als Differenz der Schwanzlängen zu Versuchsende und -beginn jedes Einzelieres. In Tab. 9 sind die mittleren Zuwachsraten in absoluten (W_{abs}) und relativen (W_{rel}) Werten sowie die prozentualen Wachstumsrückstände gegenüber den Kontrollen (R_{rel}) der einzelnen Behandlungsgruppen aufgeführt. Aus Tab. 9 wird ersichtlich, daß der Schwanzlängenzuwachs durch die Actinomycin C-Behandlung dosisabhängig abnimmt. Die Differenzen der Zuwachsraten lassen sich mit Hilfe des t-Tests, mit Ausnahme des Effektes von 3,3 TE Actinomycin C gegen die Kontrollen, statistisch sehr gut sichern (Tab. 10). Sichern lassen sich auch die Unterschiede der kombiniert behandelten Würfe gegen die bestrahlten Tiere und gegen die Effekte der entsprechenden alleinigen zytostatischen Behandlung. Es findet also eine sichere Kumulation der Einzeleffekte bezüglich der Hemmung des Schwanzlängenzu-

Tab. 8: Absolute mittlere Körpergewichte (p in g) und absolute mittlere Schwanzlängen (sl in cm) aller Behandlungsgruppen am 0., 10. und 30. Tag nach Behandlungsbeginn sowie relative Angaben in Bezug zu den Kontrollen.

Behandlung	N	0.			10.			30. Tag nach Behandlungsbeginn		
Kontrollen										
5 x 0,05 ml phys. NaCl	42	p (g)	5,88	100 %	9,30	100 %	25,10	100 %		
		sl (cm)	3,06	100 %	4,93	100 %	7,31	100 %		
5 x 3,3 TE	40	p (g)	5,86	99,65 %	8,51	91,50 %	24,55	97,80 %		
Actinomycin C		sl (cm)	3,09	100,98 %	4,90	99,39 %	7,21	98,63 %		
5 x 6,6 TE	36	p (g)	5,95	101,19 %	8,22	88,38 %	22,54	89,80 %		
Actinomycin C		sl (cm)	3,09	100,98 %	4,55	92,29 %	6,82	93,29 %		
5 x 13,3 TE	17	p (g)	5,87	99,82 %	6,89	74,08 %	20,95	83,46 %		
Actinomycin C		sl (cm)	3,12	101,96 %	4,34	88,03 %	6,41	87,68 %		
1000 R+5 x 0,05 ml phys. NaCl	45	p (g)	5,90	100,34 %	9,53	102,47 %	26,64	106,13 %		
		sl (cm)	3,00	98,03 %	4,90	99,39 %	6,58	90,01 %		
1000 R+5 x 3,3 TE	39	p (g)	5,93	100,85 %	8,96	96,34 %	25,42	101,27 %		
Actinomycin C		sl (cm)	3,07	100,32 %	4,71	95,53 %	6,35	86,86 %		
1000 R+5 x 6,6 TE	36	p (g)	5,85	99,48 %	7,74	83,22 %	22,56	89,88 %		
Actinomycin C		sl (cm)	3,04	99,34 %	4,51	91,48 %	6,07	83,03 %		
1000 R+5 x 13,3 TE	15	p (g)	5,96	101,36 %	7,44	80,00 %	20,78	82,78 %		
Actinomycin C		sl (cm)	3,15	102,94 %	4,24	86,00 %	5,72	78,24 %		

Tab. 9: Zuwachsraten der Schwänze infantiler Mäuse nach zytostatischer und / oder radio-
logischer Behandlung. Absoluter Zuwachs (W_{abs}) in cm. Zuwachs in Prozent der Kon-
trollen (= 100 %) (W_{rel}) und Wachstumsrückstand (Rel) in % der Kontrollen (= 0 %),
jeweils mit Standardabweichung ($s_{\bar{x}}$).

Behandlung	N	W_{abs} (cm)	$s_{\bar{x}}$	W_{rel} (%)	$s_{\bar{x}}$	Rel (%)	$s_{\bar{x}}$
Kontrollen							
15 x 0,05 ml phys. NaCl	42	4,24	$\pm 0,0738$	100	$\pm 1,7413$	0	$\pm 1,7413$
5 x 3,3 TE Actinomycin C	40	4,12	$\pm 0,0558$	97,05	$\pm 1,3173$	2,95	$\pm 1,3173$
5 x 6,6 TE Actinomycin C	36	3,73	$\pm 0,1224$	87,93	$\pm 3,0314$	12,07	$\pm 3,0314$
5 x 13,3 TE Actinomycin C	17	3,29	$\pm 0,0418$	77,50	$\pm 0,9886$	22,50	$\pm 0,9886$
1000 R	45	3,51	$\pm 0,0405$	82,81	$\pm 0,9549$	17,19	$\pm 0,9549$
1000 R+5 x 3,3 TE Actinomycin C	39	3,28	$\pm 0,0449$	77,35	$\pm 1,0594$	22,65	$\pm 1,0594$
1000 R+ 5 x 6,6 TE Actinomycin C	36	3,03	$\pm 0,0282$	71,30	$\pm 0,6654$	28,70	$\pm 0,6654$
1000 R+5 x 13,3 TE Actinomycin C	15	2,57	$\pm 0,0548$	60,49	$\pm 1,2938$	39,51	$\pm 1,2938$

Tab. 10: Vergleich der Differenzen der mittleren Zuwachsraten der Schwanzlängen vom 0. - 30. Tag nach Behandlungsbeginn über den t-Test. Angabe der P-Werte.

	Kontr.	5 x 3,3 TE Act.C	5 x 6,6 TE Act.C	5 x 13,3 TE Act.C
N	42	40	36	17
42 Kontrolle	-			
40 5 x 3,3 TE Actinomycin C	0,20	-		
36 5 x 6,6 TE Actinomycin C	0,01	0,01	-	
17 5 x 13,3 TE Actinomycin C	0,01	0,01	0,01	-
	1000 R	1000 R+ 5 x 3,3 TE Act.C	1000 R+ 5 x 6,6 TE Act.C	1000 R+ 5 x 13,3 TE Act.C
N	45	39	36	15
42 Kontrolle	0,01	0,01	0,01	0,01
40 5 x 3,3 TE Actinomycin C	0,01	0,01	0,01	0,01
36 5 x 6,6 TE Actinomycin C	0,10	0,01	0,01	0,01
17 5 x 13,3 TE Actinomycin C	0,01	>0,50	0,01	0,01
	1000 R	1000 R+ 5 x 3,3 TE Act.C	1000 R+ 5 x 6,6 TE Act.C	1000 R+ 5 x 13,3 TE Act.C
N	45	39	36	15
45 1000 R	-			
39 1000 R + 5 x 3,3 TE Actinomycin C	0,01	-		
36 1000 R + 5 x 6,6 TE Actinomycin C	0,01	0,01	-	
15 1000 R + 5 x 13,3 TE Actinomycin C	0,01	0,01	0,01	-

wachses statt. In Tab. 11 sind die Ergebnisse der Kombinationsbehandlung den Einzeleffekten und deren arithmetischen Summe (= Additions-Soll) gegenübergestellt. Es ist daraus erkennbar, daß sich die Hemmung des Schwanzlängenzuwachses durch die lokale einzeitige Bestrahlung und durch die nachfolgende fraktionierte zytostatische Behandlung bei allen drei kombinierten Dosen addiert.

Tab. 11: Hemmung des Schwanzlängenzuwachses infantiler Mäuse durch zytostatische, radiologische und kombinierte Behandlung, angegeben in % der Kontrollen. Den Ergebnissen der Kombinationsbehandlung ist die arithmetische Summe der Einzeleffekte (= Soll) gegenübergestellt.

				Kombination	
Actinomycin C		1000 R		Soll	Ist
3,3 TE	2,95	+	17,19	= 20,14	22,65 %
6,6 TE	12,07	+	17,19	= 29,26	28,70 %
13,3 TE	22,50	+	17,19	= 39,69	39,51 %

6.3. Diskussion

Ein Vergleich der Ergebnisse der mit lokaler Bestrahlung kombinierten Actinomycin C-Behandlung mit den anderen in unserer Arbeitsgruppe untersuchten Zytostatika Endoxan (RINGLEB, 1967), Natulan, Proresid und 5-Fluoruracil (STECKENMESSER, 1968) in Tab. 12 zeigt, daß in der Regel additive Kumulationsmechanismen zu beobachten waren. In diesem Falle ist eine Aussage über die Größe des Kombinationseffektes mit Hilfe der arithmetischen Summe der Einzeleffekte statthaft, da die Dosis-Wirkungs-Kurven sowohl der zytostatisch bedingten, wie auch der radiogenen Wachstumshemmung (Abb. 8) in

dem untersuchten Dosisbereich praktisch linear verlaufen. Die Abweichungen vom Additions-Soll dürften weniger den spezifischen Kumulationseffekten der jeweiligen Behandlung, als vielmehr den Fehlermöglichkeiten bei der Anwendung des Versuchsmodells zuzuordnen sein. So beträgt die Meßgenauigkeit beim Bestimmen der Schwanzlänge ± 1 mm (RINGLEB, 1967), d.h. bei einer durchschnittlichen Schwanzlänge von 4 cm zu Versuchsbeginn bzw. 8 cm zu Versuchsende einen Meßfehler von $\pm 2,50$ % bzw. $\pm 1,25$ %. Bei der Betrachtung des Schwanzlängenzuwachses geht der Meßfehler zweimal ein, durch die Addition zweier Werte, wie dies zur Bestimmung des Additions-Solls geschieht, nochmals zweimal. Möglicherweise werden schon dadurch dem Versuchsmodell Grenzen gesetzt.

Tab. 12: Hemmung des Schwanzlängenzuwachses durch radiologische, zytostatische und kombinierte Behandlung. Über den Vergleich mit der Summe der Einzelleffekte (= Additions-Soll) wird eine Aussage über die Größe des Kombinationseffektes gemacht.

zytostat. Behandlung	1000 R		Kombination		
			Soll	Ist	
3,3 TE Endoxan	3,3	+ 29,6	= 32,9	33,1	%
13,3 TE "	38,1	+ 29,6	= 67,7	53,7	%
3,3 TE Natulan	0	+ 29,6	= 29,6	38,7	%
13,3 TE "	12,5	+ 29,6	= 42,1	44,0	%
3,3 TE Proresid	0	+ 29,6	= 29,6	32,2	%
3,3 TE 5-FU	2,7	+ 29,6	= 32,3	28,7	%
13,3 TE "	19,0	+ 29,6	= 48,6	53,7	%
3,3 TE Act. C	2,9	+ 17,2	= 20,1	22,6	%
6,6 TE "	12,1	+ 17,2	= 29,3	28,7	%
13,3 TE "	22,5	+ 17,2	= 39,7	39,5	%

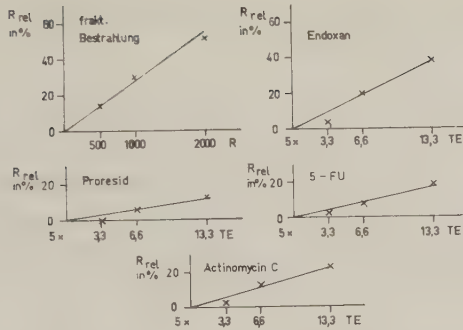


Abb. 8: Dosis-Wirkungs-Beziehungen bei der radiologisch bzw. zytostatisch bedingten Hemmung des Längenwachstums infantiler Mäuseschwänze.
R_{rel} = Wachstumsrückstand in % der Kontrollen.

Während die radiogene Wachstumsstörung durch eine direkte Beeinflussung der mitotischen Aktivität der Knorpelzellen in der Epiphysenfuge zustande kommt, ist eine solche direkte Beeinflussung der Skelettwachstumszonen durch Zytostatika wegen der fehlenden Gefäßversorgung des Knorpels möglicherweise nur als Teilwirkungsmechanismus anzusehen. Die durch eine zytostatische Behandlung verursachte Hemmung des Schwanzlängenwachstums könnte auch durch eine Funktionsstörung anderer proliferativer und stoffwechselaktiver Gewebe (Epithel der Dünndarmschleimhaut, Leberzellen) zustande kommen, wobei dies dann sekundär über eine Hemmung der Resorption oder Proteinsynthese zu Mangelercheinungen führen würde, die das Wachstum des Gesamtorganismus limitieren. Eine Betrachtung von relativen Werten (Schwanzlänge/Körpergewicht) ist nicht möglich, da die Veränderung dieser Werte für die lokal bestrahlten Gruppen und die mit Actinomycin C behandelten Gruppen entgegengesetzte Vorzeichen tragen.

6.4. Zusammenfassung der Ergebnisse der Versuche an infantilen Mäuseschwänzen

Das Längenwachstum des Schwanzes infantiler Mäuse wird sowohl durch Actinomycin C, als auch durch radiologische Behandlung dosisabhängig gehemmt. Mögliche Wirkungsunterschiede werden diskutiert. Bei der kombinierten Behandlung (1000 R + 5 x n TE Actinomycin C) wurde eine Addition der Wirkungen beobachtet.

7. Zusammenfassung der Versuchsergebnisse und vergleichende Diskussion

Insgesamt wird aus den Veröffentlichungen unserer Arbeitsgruppe (RINGLEB, 1967, 1968, et al. 1969, SAUER, 1968, SCHNEIDER, 1967, STECKENMESSER, 1968) wie aus den eigenen Versuchen über kombinierte Actinomycin-Strahlen-Behandlung ersichtlich, daß die Wirkungen von Röntgenstrahlen und Zytostatika auf granulative, jugendliche und germinative Granulationsgewebe kumulieren. Dabei konnten additive und fraglich superadditive Kombinationseffekte beobachtet werden. Die Methode des Vergleichs des Kombinationseffektes mit der Summe der Einzeleffekte kann nur dann zu einer richtigen Aussage über die Größe des Kombinationseffektes führen, wenn die Dosis-Wirkungs-Kurven beider Agentien im zu untersuchenden Bereich linear verlaufen. Dies trifft bei den Untersuchungen über die Hemmung des Schwanzlängenwachstums infantiler Mäuse sowohl für die fraktionierte Bestrahlung als auch für die untersuchten Zytostatika mit genügender Genauigkeit zu, dagegen nicht in den Hodenversuchen. Hier konnte jedoch für Endoxan, Natulan und Actinomycin C gezeigt werden, daß sie bei der Kombination mit fraktionierter Bestrahlung im Rahmen der Dosis-Wirkungs-Kurve der fraktionierten Bestrahlung in additiver Weise kumulieren; ein ähnliches additives Verhalten wurde für Proresid und 5-Fluoruracil diskutiert. Unter diesem Gesichtspunkt müssen die superadditiven Kombinationseffekte, die bei der Hemmung der Heilung von Ohrstanzwunden nach kombinierter Behandlung angenommen worden waren (STECKENMESSER, 1968) als nicht genügend gesichtet betrachtet werden, da keine Dosis-Wirkungs-Kurven erstellt werden konnten.

Durch die in den Versuchsmodellen der Bestrahlung nachfolgende zytostatische Behandlung war eine Verstärkung des initialen Strahlenschadens, wie dies

von GRIEM et al. (1967) bei der Gabe von Actinomycin D oder Proresid vier Stunden vor der Bestrahlung vermutet wird, nicht zu erwarten. Demgegenüber hätten bei der von uns gewählten zeitlichen Reihenfolge der Agentien über eine Beeinflussung der Regenerationsphase der Strahlenschädigung durch Actinomycin C superadditive Kombinationseffekte erwartet werden können. Sowohl bei den Versuchen über eine Beeinflussung des Hodengewichtes (4.3.) als auch bei der Beobachtung der Hemmung des Schwanzlängenwachstums (6.3.) nach kombinierter Actinomycin C-Strahlen-Behandlung wurden nur additive Kombinationseffekte nachgewiesen.

Andersartige Einflüsse der zytostatischen Nachbehandlung auf das Ausmaß der Kumulation bei reparativen und regenerativen Vorgängen wurden in ihrer möglichen Bedeutung für die Heilungsverzögerung von bestrahlten Ohrstanzwunden bereits im Abschnitt 5.3. diskutiert: Die Zytostatika könnten auf Granulationsgewebe einwirken, dessen Heilungstendenz mit zunehmend verzögerter Heilung nachläßt.

8. Zur Frage der Übertragbarkeit der Versuchsergebnisse in die onkologische Klinik

Prinzipiell sind die Beobachtungen über die Summation der Wirkungen einer radiologisch-zytostatischen Kombinationsbehandlung auf das männliche Keimepithel, die wir anhand der Abnahme des Hodengewichtes weißer Mäuse nachweisen konnten, direkt auf die Verhältnisse am Menschen übertragbar und sollten bei einer Bestrahlung mit Tumordosen im Abdominalbereich und nachfolgender zytostatischer Behandlung bedacht werden.

Die Übertragbarkeit des Nachweises der Addition der radiogenen und zytostatisch bedingten Längenwachstumshemmung des Schwanzes infantiler Mäuse als Modell für die Möglichkeit der Wachstumsschädigung nach kombinierter Behandlung von Malignomen in die Humanpädiatrie stößt auf zwei Schwierigkeiten. Zum einen können unsere Versuchsergebnisse keinen Aufschluß darüber geben, inwieweit die zytostatisch bedingte Skelettlängenwachstumshemmung auf Grund einer direkten Beeinflussung der mitochondrialen Aktivität der Knorpelzellen der Epiphysenfugen zustande kommt, oder als Folge der Funktionsstörung anderer Organe anzusehen ist. Zum anderen verläuft das Skelettwachstum der Maus etwa um den Faktor 50 - 100 schneller als beim Menschen. Beides zusammen würde bedeuten, daß eine Beeinträchtigung des Längenwachstums beim Kind durch eine hochdosierte und langdauernde zytostatische Behandlung möglich erscheint, und auf diese Weise auch die durch Bestrahlung verursachten Wachstumsstörungen verstärkt werden könnten. Wahrscheinlich werden jedoch andere Nebenwirkungen, insbesondere hämatologischer Art, schon bevor es zu einer Schädigung des Skelettwachstums kommt, zum Absetzen oder zur Unterbrechung der zytostatischen Therapie führen. So konnte HOLWEG (1963) berichten, daß die erwartete allgemeine

Wachstumsverzögerung durch zytostatische Behandlung von Kleinkindern in den bisher üblichen Dosen nicht deutlich geworden ist.

Der Versuch zur Beeinflussung der Heilung von Ohrstanzwunden durch eine Einzelbestrahlung mit nachfolgender zytostatischer Langzeitbehandlung (8 TE Actinomycin C/d über 32 Tage) wurde durchgeführt, um eine Aussage über die Kombinationsschädigung des angliomesenchymalen Systems machen zu können. Die Reaktion dieses Gewebes auf die Kombinationsbehandlung ist von besonderem Interesse, da dem Bindegewebe des Tumorbettes eine entscheidende Funktion für den geschwulstbeseitigenden Effekt einer Strahlenbehandlung zukommt, die als Abräumfunktion bezeichnet wurde. Eine Beeinträchtigung dieser Funktion durch eine zytostatische Nachbehandlung würde den möglichen kurativen Effekt einer Bestrahlung in Frage stellen. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um den Einfluß einer Kombinationsbehandlung auf das Bindegewebe zu klären. Solche Untersuchungen könnten möglicherweise Aufschlüsse über die am CROCKER-Sarkom (RINGLEB, 1967, SAUER, 1968) und anderen Impftumoren gefundenen antagonistischen Effekte der Kombinationsbehandlung geben.

Daß die von BARTH et al. (1966) zum Ausdruck gebrachten Befürchtungen über die Summation synzytostatischer Nebeneffekte einer radiologisch-zytostatischen Kombinationsbehandlung nicht grundlos waren, wurde inzwischen von RINGLEB (1967) und SCHNEIDER (1967) für das Alkylans Endoxan und von SAUER (1968) und STECKENMESSER (1968) für das Alkylans Natulan, das Antimitotikum Proresid und den Antimetaboliten 5-Fluoruracil experimentell nachgewiesen und konnte auch von uns für das Antibiotikum Actinomycin C gezeigt werden.

9. Zusammenfassung

Es werden die Effekte einer fraktionierten Röntgen-Actinomycin C-Behandlung auf das Gewicht des Mäusehodens, einer einzeitigen Bestrahlung mit nachfolgender zytostatischer Langzeitbehandlung auf die Heilung von Stanzlöchern in Mäuseohren und einer einzeitigen Bestrahlung mit nachfolgender fraktionierter zytostatischer Behandlung auf die Wachstumsrate der Schwänze infantiler Mäuse untersucht. Es wurde bei allen Versuchsmodellen eine Summation der Effekte beobachtet. In Zusammenhang mit den früheren Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe zur Frage der Synzytostase wird das Ausmaß der Kumulation der Effekte (Subaddition, Addition, Superaddition) anhand von Dosis-Wirkungs-Beziehungen diskutiert.

10. Literaturübersicht

ADELBERGER, L., H. WÖRN

Cytostatika bei malignen Tumoren der Lunge, der Pleura
und des Mediastinums

In: Therapie maligner Tumoren. Hrsg. E. Holder, F. Mey-
thaler, R. du Mesnil de Rochemont, Bd. 1, S. 474,
Stuttgart 1966

BAL, A. K., P. R. GROSS

Mitosis and differentiation in roots treated with
actinomycin

Science 139, 1963, 584

BANE, H. N., J. T. CONRAD, G. S. TARNOWSKI

Combination therapy of malignant tumors with ionizing
radiations and chemicals: a review

Cancer Res. 17, 1957, 551

BARTH, G., G. v. FREIER, H. GRAEBNER, D. RINGLEB

Umgestaltung einer Röntgen-Materialprüfanlage zur
Tierbestrahlung

Strahlenther. 124, 1964, 137

---., D. RINGLEB

Radiologische und kombiniert radiologisch-cytostatische
Geschwulstbehandlung

In: Therapie maligner Tumoren. Hrsg. E. Holder, F. Mey-
thaler, R. du Mesnil de Rochemont, Bd. 1, S. 824,

Stuttgart 1966

---., ---.

Zur Wertigkeit der Strahlenbehandlung des Bronchus-
karzinoms

Hess. Ärzteblatt 29, 1968 a, 155

---., ---.

Allgemeine Strahlentherapie

In: Klinische Radiologie, Hrsg. J. Becker, S. 349,

Stuttgart 1968 b

BASES, R. E.

Modification of radiation response determined by single-cell technics: actinomycin D

Cancer Res. 19, 1959, 1223

BAUER, K. H.

Das Krebsproblem

Berlin - Göttingen - Heidelberg 1963, 2. Aufl.

BAUER, R., D. SCHOEN, P. GEBHARDT

Ergebnisse mit der Strahlentherapie des Bronchuskarzinoms

Strahlentherapie 128, 1965, 28

BAUNACH, A.

Über den Einfluß von Dosis und Rhythmus auf den Grad der Wachstumsschädigung des Knochenwachstums bei Röntgenbestrahlungen

Strahlentherapie 54, 1935, 52

BECK, A.

Über Wachstumsschädigung nach therapeutischer Röntgenbestrahlung

Strahlentherapie 32, 1929, 517

BERGONIE, J., L. TRIBONDEAU

Interprétation de quelques résultats de la radiothérapie et essai de fixation d'une technique rationnelle
Cpte. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences 143, 1906, 983

BIERLING, R.

Die Wirkung von Actinomycin auf menschliche Gewebe in vitro

Z. Krebsforschung 63, 1960, 519

BOERNSTEIN, R., F. STEIN

Anatomische Heilung einer Lymphogranulomatose nach Actinomycintherapie

Ärztl. Wschr. 9, 1954, 896

- BOLLAG, W., F. A. ESSELIER
Erfahrungen mit Actinomycin C
Schweiz. med. Wschr. 41, 1954, 1174
- BRAUNSTEINER, H.
Krankheiten des Blutes
In: Lehrbuch der Inneren Medizin. Hrsg. H. Dennig,
Bd. 1, S. 289, 7. Aufl., Stuttgart 1966
- BROCKMANN, H.
Chemie und Biologie der Actinomycine
Angew. Chem. 66, 1954, 1
- , N. GRUBHOFFER
Actinomycin C
Naturwiss. 36, 1949, 376
- , N. PFENNIG
Auftrennung von Actinomycin durch Gegenstromverteilung
Naturwiss. 39, 1952, 429
- BULLOCK, E., A. W. JOHNSON
Actinomycin. V. Structure of Actinomycin D
J. Chem. Soc. 2, 1957, 3280
- VAN CANEGHEM, P., C. G. SCHIRREN
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der Röntgenstrahlenempfindlichkeit von Knochenwachstumszonen
Arch. Klin. Exper. Dermat. 206, 1957, 104
- CAVALLI - SFORZA, L.
Grundbegriffe der Biometrie
Stuttgart 1964
- CHAN, P. Y. M., E. J. LIEBNER
In vitro effects of irradiation combined with actinomycin D
Radiology 76, 1961, 273
- COBB, J. P., D. G. WALKER
Effect of actinomycin D on tissue cultures of normal and neoplastic cells
J. Nat. Cancer Inst. 21, 1958, 263

COHN, S. H., J. K. GONG

Wirkung von 2000 R Lokalbestrahlung auf das Knochenwachstum bei der Ratte

Growth 17, 1953, 7

CRAIG, A. W., B. W. FOX, H. JACKSON

Sensitivity of the spermatogenic process in the rat to radiomimetic drugs and x-rays

Nature 181, 1958, 353

D'ANGIO, G. J., B. BROWN

Potentialtion of x-ray effects on normal mouse skin by actinomycin D

Proc. Am. Ass. Cancer Res. 2, 1960, 103

----, S. FARBER, C. L. MADDOCK

Potentialtion of x-ray effects by actinomycin D

Radiology 73, 1959, 175

DRUCKREY, H., D. STEINHOFFER, M. MAKAYAMA, P. PREUSSMANN, K. ANGER

Experimentelle Beiträge zum Dosis-Problem in der Krebs-Chemotherapie und zur Wirkungsweise von Endoxan

Dtsch. Med. Wschr. 88, 1963, 651 u. 715

DUSTIN, A. P.

Some new aspects of mitotic poisoning

Nature 159, 1947, 794

ESCHENBRENNER, A. B., E. MILLE

Effect of roentgen rays on the testis

Arch. Path. 50, 1950, 736

FARBER, S., G. J. D'ANGIO, A. EVANS, A. MITUS

Clinical studies of actinomycin D with special reference to Wilms' tumor in children

An. N.Y. Acad. Sc. 89, 1960, 421

----, R. TOCH, E. M. SEARS, D. PINKEL

Advances in chemotherapy of cancer in man

Cancer Res. 4, 1956, 1

FINK, U.

Immunosuppressive Therapie

Med. Klin. 64, 1969, 1069

FÖRSTERLING, K.

Wachstumsstörungen infolge Röntgenisierung

Verh. Dtsch. Röntgen-Ges. 3, 1906, 126

--.---

Wachstumsstörungen nach Röntgenbestrahlung

Verh. Dtsch. Röntgen-Ges. 5, 1909, 68

GAUWERKY, F.

Über die Strahlenschädigung des wachsenden Knochens

Strahlenther. 113, 1966, 325

GOLDBERG, I. H., M. RABINOWITZ, E. REICH

Basis of actinomycin action. I. DNA binding and inhibition
of RNA-polymerase synthetic reactions by actinomycin

Proc. Nat. Acad. Sc. 48, 1962, 2094

GRIEM, M. L., F. D. MALKINSON

Some studies on the effect of radiation and radiation
modifiers on growing hair

Radiat.Res. 30, 1967, 431 - 43

---, RANNINGER, K.

Modification of radiation effect on hair roots of mouse
by actinomycin

Radiat.Res. 17, 1962, 92 - 100

GROSS, R., H. E. BOCK

Die Chemotherapie der Tumorleiden

In: Klinik der Gegenwart. Hrsg. R. Cobet, K. Gutzeit,

H. E. Bock, Bd. 5, S. 235, München - Berlin - Wien 1957

GÜNSEL, E.

Die Strahlenschäden am wachsenden Knochen

Strahlenther. 91, 1953, 595

HABERS, E.

Experimentelle Untersuchungen über das Zusammenwirken
von Chemotherapeutika und Röntgenstrahlen

Sonderband zur Strahlenther. 57, 1964, 182

HABERS, E., W. MÜLLER

On the inhibition of RNA synthesis by actinomycin
Biochem. biophys. Res. Commun. 7, 1962, 107

HACKMANN, C.

Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung von
Actinomycin C bei bösartigen Geschwulsten
Z. Krebsforsch. 58, 1952, 607

---.

HBF 386 (Actinomycin C), ein cytostatisch wirksamer
Naturstoff
Strahlentherapie 20, 1953, 296

---.

Untersuchungen über den Einfluß des Sanamycins (Actino-
mycin C) auf tierische Organe: Milz, Thymus, Lymphknoten,
Nebennieren und Keimdrüsen
Z. Krebsforsch. 60, 1954, 250

---., G. SCHMIDT-KASTNER

Über die zytostatische Wirkung verschiedener neuer
biosynthetischer Actinomycine bei experimentellen
Tumoren
Z. Krebsforsch. 61, 1957, 607

HAMILTON, L. D., W. FULLER, E. REICH

X-ray diffraction and molecular model building studies
of the interaction of actinomycin with nucleic acids
Nature 198, 1963, 538

HEITE, H. J.

Ein tierexperimentelles Modell zur quantitativen Prüfung
wundheilungsfördernder Salben
Arzneimittel-Forsch. 5, 1955, 151

---., K. H. NIKOLAI

Eine Methode zur quantitativ-vergleichenden Erfassung
der gewebsschädigenden Wirkung von Röntgenstrahlen
Strahlenther. 100, 1956, 455

HODNETT, E. M.

Drugs Used with Radiation in treatment of Cancer
Cancer Chemother. Rep. 32, 1963, 55

HOLLAND, W. C., R. L. KLEIN, A. H. BRIGGS
Molekulare Pharmakologie, S. 176, Stuttgart 1967

HOLWEG, H.-J.

Über die allgemeine Entwicklung zweier Säuglinge,
die nach Sarkomoperation ein Jahr lang mit Endoxan
behandelt wurden

Wschr. Kinderkh. 111, 1963, 307

HOPPE, L.

Der Einfluß verschiedener zytostatischer Substanzen
auf die Granulationsgewebsbildung experimentell ge-
setzter Wunden

Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 68, 1962, 259

HORVATH, J., F. HORVATH, E. JUHASZ, L. URBANYI

Über die Strahlenschädigung wachsender Knochen
Strahlenther. 118, 1962, 462

HUBACHER, O.

Fünfjahresresultate bei der Kombinationsbehandlung
mit der Kobaltbombe und den Zytostatika SP-G und
SP-I (Sandoz)

Dtsch. med. Wschr. 90, 1965, 2145

HURWITZ, J., J. J. FURTH, M. MALAMY, M. ALEXANDER

The role of desoxyribonucleic acid in ribonucleic
acid synthesis. III. The inhibition of the enzymatic
synthesis of ribonucleic acid and desoxyribonucleic
acid by actinomycin D and proflavin

Proc. Nat. Acad. Sc. 48, 1962, 1222

HUTH, E.

Cytostatika bei Hämoblastosen und Tumoren des Kindes-
alters

In: Therapie maligner Tumoren, Hrsg. E. Holder, F. Mey-
thaler, R. du Mesnil de Rochemont, Bd. 1, S. 429,
Stuttgart 1966

JACKSON, H., M. BOCK

Effect of triethylenemelamine on the fertility of rats
Nature 175, 1955, 1037

JACKSON, H., B. W. FOX, A. W. CRAIG

The effect of alkylating agents on male rat fertility

Brit. J. Pharm. 14, 1959, 149

JAMMERS, P.

Ergebnisse der Sanamycinbehandlung im Vergleich zur Strahlenbehandlung der Lymphogranulomatose

Klin. Wschr. 38, 1960, 992

KARRER, K.

Zytostatika und Wundheilung

3. Internat. Kongr. Chemother., 1963, Stuttgart,

2. Bd., S. 1081

KAWAMATA, J., M. IMANISHI

Interaction of actinomycin with desoxyribonucleic acid

Nature 187, 1960, 1112

KEIR, H. M., H. OMURA, J. B. SHEPHERD

Inhibition of mammalian desoxyribonucleic acid nucleotidyltransferase by actinomycin D

Biochem. J. 89, 1963, 425

KERSTEN, W.

Interaction of actinomycin C with constituents of nucleic acids

Biochim. biophys. Acta 47, 1961, 610

---, H. KERSTEN, H. M. RAUEN

Action of nucleic acids on the inhibition of growth by actinomycin of *Neurospora crassa*

Nature 187, 1960, 60

KIRK, J. M.

Mode of action of Actinomycin D

Biochim. biophys. Acta 42, 1960, 167

KLIGERMAN, M. M.

Present status of combined radiation therapy and chemotherapy

In: Progress in Radiation Therapie. Hrsg. F. Buschke,

Bd. 3, S. 183, New York - London 1965

KOHN, H. I., R. F. KALLMAN

Testes weight loss as a quantitative measure of x-ray injury in the mouse, hamster and rat
Brit. J. Radiol. 27, 1954, 586

LIEBNER, E. J.

Actinomycin D and radiation therapy
Amer. J. Roentgen 87, 1962, 94

LORENZ, E., W. E. HESTON, A. B. ESCHENBRENNER, M. K. DERINGER

Biological studies in the tolerance range
Radiology 49, 1947, 274

MADDOCK, C. L., B. BROWN, G. J. D'ANGIO, C. TEDESCHI
Histologic studies of potentiation of x-ray effect by actinomycin D on skin of normal mice
Fed. Proc. 19, 1960, 352

---, L. REV-KURY, B. L. BROWN

Testicular damage resulting from Actinomycin D, x-radiation and their combination in CAF mice
Radiat Res. 26, 1965, 584 - 92

MAGNUS, D., K. ZEITLER

Kombination von Röntgenstrahlen und Sanamycin bei der Behandlung von Erkrankungen des blutbildenden Systems
Strahlenther. 98, 1955, 413

MAISIN, H.

Chimiothérapie anticancéreuse et radiosensibilisation
J. belge Radiol. 46, 1963, 391

MANAKER, R. A., F. J. GREGORY, L. C. VINING, S. A. WAKSMAN

Actinomycin III. The production and properties of a new actinomycin
Antibiot. Ann. 1954 - 55, 853

MARTIN, H.

Erfahrungen bei der Behandlung der Lymphogranulomatose mit Actinomycin C (Sanamycin)
Klin. Wschr. 32, 1954, 518

MONTAG, C.

Über Schädigungen des wachsenden Knochens bei Röntgen-
nachbestrahlung und ihre Vermeidung
Strahlenther. 84, 1951, 314

PAPAC, R. J.

The relative place of chemotherapy and radiation
therapy
In: Progress in Radiation Therapy. Hrsg. F. Buschke,
Bd. 2, S. 137, New York - London 1962

PERTHES, G.

Über den Einfluß der Röntgenbestrahlung auf epitheliale
Gewebe, insbesondere auf das Carcinom
Arch. Klin. Chir. 71, 1903, 955

PICHLMAIER, H.

Praktische Ergebnisse bei der Nierenverpflanzung
Therapeut. Berichte 2, 1969, 79

PINKEL, D.

Actinomycin D in childhood cancer
Pediatrics 23, 1959, 342

QUAST, E.

Untersuchungen zur Frage der individuellen Röntgen-
strahlenempfindlichkeit, zugleich ein Beitrag zur Ent-
wicklung und Vervollständigung strahlenbiologischer
Testreaktionen
Inaug. Diss. Med. Giessen 1967

RANNIGER, K., M. L. GRIEM

Optimal treatment time in combination therapy of
Actinomycin D
Radiat. Res. 12, 1960, 465

---, ---

Modification of radiation response of tumors by
Actinomycin D
Amer. J. Roentgenol. 96, 1966, 147

RAUEN, H. M., H. KERSTEN, W. KERSTEN

Zur Wirkungsweise von Actinomycinen
Z. physiol. Chem. 321, 1960, 139

RAUSCH, L.

Strahlenbiologische Untersuchungen zur Sieb- und Rasterbestrahlung. 1. Mitteilung: Tierexperimentelle Studien über die Bedeutung des Homogenitätsquotienten für den hautschonenden Effekt der Siebbestrahlung.

Strahlenther. 115, 1961, 283

--.---

Über den Vorgang der Erholung im bestrahlten Gewebe, zugleich ein Beitrag zur Frage der Kombinationsnoxe

Strahlenther. 118, 1962 a, 276

--.---

Tierexperimentelle, histologische und dosimetrische Untersuchungen über einfache strahlenbiologische Modelle und ihre praktische Anwendung. 5. Mitteilung: Die Bedeutung der räumlichen Dosisverteilung beim Stanzloch-Abheilungstest am Kaninchenohr, zugleich ein Beitrag zur Frage nachbarschaftlicher Wechselwirkungen zwischen bestrahlten und unbestrahlten Geweben

Strahlenther. 118, 1962 b, 550

--.---

Schnell ablaufende Erholungsvorgänge in der Haut nach Röntgenbestrahlung

Strahlenther. 127, 1965, 393

--.---, E. ANDER

Untersuchungen zur Beziehung zwischen örtlicher und allgemeiner Strahlenempfindlichkeit

Sonderband 62 zur Strahlenther. 1966, 198

RAUSCH, L., W. KOCH, G. HAGEMANN

Klinische und dosimetrische Untersuchungen zur Frage der kritischen Dosis und typischer Strahlenschäden am Skelett bestrahlter Angiom-Patienten

Sonderband zur Strahlenther. 55, 1964, 199

RAVENTOS, A.

Combined radiation and chemotherapy

In: Current Perspectives in Cancer Therapy. Hrsg. W. S. Blachmore, J. S. Ravdin, S. 58, New York - London 1966

REICH, E., I. H. GADBERG, M. RABINOWITZ

Structureactivity correlations of actinomycin and
their derivatives

Nature 196, 1962, 743

RINGLEB, D.

Experimente zur Problematik radiologisch-zytostatischer
Kombinationsbehandlung

Habil. Schrift med. Giessen 1967

--.---

Zur Problematik radiologisch-zytostatischer Kombinations-
behandlung

Fortschr. Med. 86, 1968, 51

RUNGE, A.

Erfahrungen bei der Behandlung der Lymphogranulomatose

Z. Ges. inn. Med. 17, 1962, 614

SARTORELLI, A. C.

Approaches to the combination chemotherapy of transplantable
neoplasms

In: Fortschr. d. exper. Tumorforsch. Bd. 6, S. 228,

Hrsg. F. Homburger, Basel - New York 1965

SAUER, H.-D.

Einige Experimente zu radiologisch-chemotherapeutischer
Synzytostase und Synkarzinolyse

Inaug. Diss. Med. Giessen 1968

SCHAUDIG, H.

Experimentelle Untersuchungen über die Wundheilung
unter zytostatischer Behandlung

Langenbecks Arch. klin. Chir. 301, 1962, 738

SCHMIDT, H., H. LOOSEN, W. HEINEN

Sanamycin (Actinomycin C) in der Behandlung bösartiger
Geschwulste und der Lymphogranulomatose

Dtsch. med. Wschr. 80, 1955, 140

SCHMIDT - KASTNER, G.

Actinomycin E und Actinomycin F, zwei neue biosynthe-
tische Actinomycin-Gemische

Naturwiss. 43, 1956, 131

SCHNEIDER, E.

Zur Möglichkeit der Schädigung des männlichen Keim-
epithels bei radiologisch-zytostatischer Kombinations-
behandlung

Inaug. Diss. med. Giessen 1967

SCHOENINGER, E. L., P. R. SALERNO, H. L. FRIEDEL

Studies on the combined effect of actinomycin D and
x-radiation

Radiology 79, 1962, 310-5

SCHULTE, G.

Erfahrungen mit neuen cytostatischen Mitteln bei Häm-
blastosen und Carcinomen und die Abgrenzung ihrer
Wirkungen gegen Röntgentherapie

Zschr. Krebsforsch. 58, 1952, 500

--.--

Weitere Erfahrungen mit Sanamycin bei der Behandlung
der Lymphogranulomatose

Strahlenther. 94, 1954, 491

--.--, H. LINGS

Erfahrungen mit neuen zytostatischen Mitteln bei Leu-
kosen und Lymphogranulomatosen und die Abgrenzung ihrer
Wirkungen gegen Röntgentherapie

Strahlenther. 90, 1953, 301

SCHWENKENBECHER, H., H. HILLGER

Die kombinierte Behandlung der Lymphogranulomatose mit
Röntgenstrahlen und Sanamycin

Med. Klin. 51, 1956, 263

SHAW, R. K., E. W. MOORE, P. S. MUELLER, E. FREI,
O. M. WATKIN

Effect of actinomycin D on childhood neoplasms

Am. J. Dis. Child. 99, 1960, 628

SILINI, G., S. HORNSEY, D. K. BEWLEY

Effects of x-ray and neutron dosefractionation on the
mouse testis

Radiat. Res. 19, 1963, 50

SISSONS, H. A.

Experimental study of the effect of local irradiation on bone growth

In: Progress in Radiobiology. Hrsg. von J. S. Mitchell, B. E. Holmes und C. L. Smith, Verlag Oliver und Boyd, Edinburg - London 1956, S. 436

SLOTNICK, J.

Studies on the mechanism of action of actinomycin D
II. Interference with ammonia assimilation and adaptive enzyme formation

Antibiot. Chemother. 8, 1958, 476

STECKENMESSER, R.

Experimente zu radiologisch-chemotherapeutischer Synzytostase

Inaug. Diss. Med. Giessen 1968

STEINBERGER, E.

A quantitative study of the effect of an alkylating agent (triethylene-melamine) on the semiferous epithelium of rats

J. Reprod. Fertil. 3, 1962, 250

---, W. O. NELSON, A. BOCABELLA, W.J. DIXON

A radiomimetic effect of triethylenemelamine on reproduction in the male rat

Endocrinology 65, 1959, 40

STOCK, C. C.

Aspects of approaches in experimental cancer chemotherapy

Am. J. Med. 8, 1950, 658

---, H. C. REILLY, S. M. BUCKLEY, D. A. CLARK

The effect of antibiotics upon the growth of sarcoma 180 in vivo

Cancer Res. 13, 1953, 684

TAM, C. T. C., H. W. DARGEON, J. H. BURCHENAL

Effect of actinomycin D on cancer in childhood

Pediatrics 24, 1959, 544

UEHLEKE, H.

Gegenseitige Beeinflussung gleichzeitig gegebener
Arzneimittel

Therap. Gegenwart 107, 1968, 458

WACHTLER, F.

Über strahlenbedingte Schäden im knöchernen Skelett

Radiol. Austriaca 12, 1961, 253

WAKSMAN, S. A., H. B. WOODRUFF

The soil as a source of microorganisms antagonistic
to disease-producing bacteria

J. Bact. (Baltimore) 40, 1940 a, 581

---, ---

Bacteriostatic and bactericidal substances produced
by a soil actinomyces

Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 45, 1940 b, 609

---, ---

Actinomyces antibioticus, a new soil organism

antagonistic to pathogenic and non-pathogenic bacteria

J. Bact. (Baltimore) 42, 1941, 231

---, M. TISHLER

Chemical nature of actinomycin, an antimicrobial
substance produced by actinomyces antibioticus

J. Biol. Chem. 142, 1942, 519

WRIGHT, E. A., P. HOWARD-FLANDERS

The use of the growing mouse tail as a test object in
radiobiology

In: Progress in Radiobiology. Hrsg. J. S. Mitchell,
B. E. Holmes und C. L. Smith, Verlag Oliver und Boyd,
Edinburg - London 1956, S. 449

YOUNG, R. M.

Failure of prolonged daylight exposure to inactivate
actinomycin D and actinomycin P₂ in solution

Cancer Chemother. Rep. 15, 1961, 17

ZURMÜHL, M.

Praktische Mathematik

5. Aufl. Berlin, Heidelberg 1965

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. Dr.
G. B a r t h für die Überlassung einer Arbeits-
möglichkeit an der Wilhelm Conrad Röntgen - Klinik
danken. Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Privat-
dozent Dr. D. R i n g l e b sowohl für die Themen-
stellung als auch für seine hilfreiche Unterstützung
bei Durchführung und Auswertung der Versuche. Danken
möchte ich auch Herrn Prof. Dr. L. R a u s c h und
seinen Mitarbeitern für die gewährte Benutzung der
Arbeitseinrichtungen der Abteilung für experimentelle
Radiologie sowie für die stete Bereitschaft zu an-
regender Diskussion.

Lebenslauf

Ich wurde am 12. Juli 1945 als Sohn des staatl. gepr. Masseurs Ludwig Kratz und seiner Ehefrau Paula, geb. Herz, in Giessen geboren. Ich besuchte den Realschulzug der Schillerschule und anschließend bis zum Abitur 1964 das Wirtschaftsgymnasium in Giessen. Das Studium der Medizin begann ich im SS 1964 an der Justus Liebig - Universität Giessen, wo ich im SS 1970 das Staatsexamen ablegte.

